D. R. Garrod

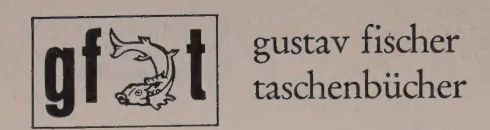
Zellentwicklung



Gustav Fischer
Verlag Stuttgart

D. R. Garrod

Zellentwicklung



Führer zur modernen Biologie

Weitere Bände dieser Reihe:

J. M. Ashworth, Zelldifferenzierung
M. Davies, Funktionen Biologischer Membranen
R. A. Woods, Biochemische Genetik

(Näheres siehe Seite 96)

Zellentwicklung

Zelluläre Interaktionen in der Embryonalentwicklung

Von
D. R. GARROD
Southampton University

Aus dem Englischen übersetzt von
Professor Dr. DIETER HESS
Stuttgart-Hohenheim

47 Abbildungen



GUSTAV FISCHER VERLAG · STUTTGART
1974

Originaltitel: Cellular Development
Original English language edition, published by
Chapman and Hall Ltd., London 1973
© 1973 D. R. Garrod

ISBN 3-437-20125-5

© Gustav Fischer Verlag · Stuttgart · 1974
Alle Rechte vorbehalten
Satz: Oelschlägersche Druckerei, Calw
Druck: Offsetdruckerei Karl Grammlich, Pliezhausen
Einband: Sigloch KG, Stuttgart
Printed in Germany

Vorwort der Herausgeber

Von einem Studenten der Biologie im höheren Semester wird erwartet, daß er mit der derzeitigen Forschung im Bereich seines Faches vertraut ist. Neue Forschungsarbeiten werden in verwirrender Vielfalt veröffentlicht, und sie gehen unvermeidlicherweise sehr ins Detail. Allein die bloße Anzahl der Fachzeitschriften und Veröffentlichungen verursacht Verwirrung, und es ist äußerst schwierig, sich deren Inhalt anzueignen. Übersichtsartikel setzen in der Regel Grundkenntnisse auf dem Gebiet voraus und sind notwendigerweise in ihrer Thematik eingeschränkt. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit für kurze, aber kompetente Einführungen in jene Bereiche der modernen Biologie, die in den gewöhnlichen Lehrbüchern entweder gar nicht oder nicht ausführlich genug behandelt werden. Davon ausgehend soll es dem Studenten möglich sein, auch die schwierigeren Artikel mit Gewinn zu lesen. Die vorliegende Reihe soll dazu beitragen, die bestehende Lücke zu schließen.

Die Autoren dieser Reihe wurden gebeten, einen kurzen Überblick über ihr Fachgebiet zu geben. Dabei wurde angenommen, daß die Leser sich bereits einiges Wissen auf dem Gebiet der allgemeinen Biologie angeeignet haben. Die Reihe baut auf dieser Basis auf und liefert damit einen theoretischen Rahmen, innerhalb dessen die moderne Forschung voranschreitet. Sie soll dem Leser Zugang zu theoretischen und praktischen Problemen verschaffen, die überwunden werden müssen, wenn ein Fortschritt erzielt werden soll. Wir hoffen, daß die Studenten damit beginnen, die ausführlicheren Berichte und Artikel, auf die in diesem Buch hingewiesen wird, mit größerem Verständnis zu lesen, und daß sie diese in die moderne Forschung besser eingliedern können. So soll ihnen bei der Wahl der eigenen Forschungsrichtung geholfen werden.

Die vorliegenden Bändchen sind keine Lehrbücher, sondern »Führer«. Da die moderne Forschung sich wenig um die akademische Aufgliederung kümmert, der Lehre und Lehrbücher der Biologie notwendigerweise folgen, haben wir uns in dieser Reihe darum bemüht, Leitfäden für jene Wissenschaftsbereiche zu schaffen, die zwischen mehreren akademischen Disziplinen liegen oder diese überschneiden. Denn gerade auf diesen Gebieten ist die Kluft zwischen Veröffentlichungen und Lehrbüchern und damit der Bedarf nach einführenden Darstellungen am größten. Wir hoffen, daß wir auf diese Weise die grundlegenden

Lehrbücher ergänzt und erweitert, jedoch nicht überflüssig gemacht haben. Vielleicht können wir den Studenten helfen, Einsicht in das Voranschreiten der modernen biologischen Forschung zu gewinnen und zugleich ein erfolgreiches Examen vorzubereiten.

T. W. Goodwin, Liverpool · J. M. Ashworth, Leicester

Inhalt

1. Einführung

1.1. Aspekte der Entwicklung

Wenn man einen Film zur Entwicklung eines vielzelligen Organismus gesehen oder – besser noch – die Entwicklung von Embryonen selbst verfolgt hat, kann einem die Schönheit der Entwicklungsprozesse kaum entgangen sein – aber auch nicht ihr komplizierter Charakter. Wenn man daran denkt, Entwicklungsvorgänge zu analysieren, sollte das jedoch kein Grund zur Verzweiflung sein. Ganz im Gegenteil, man wird dadurch unmittelbar zum ersten und wichtigsten Schritt in der Analyse geführt, nämlich zur Simplifizierung durch Aufteilung des Gesamtproblems in Teilaspekte, die mit Aussicht auf Erfolg untersucht werden können.

Bei einer solchen Unterteilung von Entwicklungsprozessen wäre es am naheliegendsten, chronologisch vorzugehen. Man würde also etwa mit der Befruchtung beginnen und dann über die Furchung, die Blastulabildung und die Gastrulation zur Organbildung übergehen. Eine derartige Einteilung hat ihre Vorteile für eine rein deskriptive Studie, aber sie bringt als Nachteil mit sich, daß Ähnlichkeiten zwischen verschiedenen Entwicklungsstadien verschleiert werden könnten. Zudem darf angenommen werden, daß jeder Leser dieses Buches einige Grundkenntnisse der deskriptiven Embryologie mit sich bringt. Unsere Unterteilung soll deshalb auf den zugrunde liegenden Mechanismen basieren, eine Gliederung, die gewiß willkürlich erscheinen mag, die aber gerade deswegen zu einem besseren Erfassen der Probleme der Entwicklung führt.

Wir wollen die Entwicklung der vielzelligen Organismen in folgende drei Teilaspekte unterteilen:

1.1.1. Die Differenzierung

Unter Differenzierung sei die strukturelle und funktionelle Spezialisierung bestimmter Zellen verstanden. Sie geht von einem unter mehreren grundlegenden Zelltypen aus, die normalerweise über die Fähigkeit verfügen, sich in verschiedene Richtungen zu entwickeln. So können sich die Mesenchymzellen der embryonalen Gliedmaßenknospe von Hühnern unter anderem zu Muskel-

oder Knorpelzellen entwickeln. Bei der Differenzierung handelt es sich weitgehend um Vorgänge innerhalb der Zelle, die zu Zellmaterial mit ganz bestimmten biochemisch oder cytologisch faßbaren Charakteristika führen. Ihre Ursache ist eine differentielle Genaktivität, über die Genprodukte angeliefert werden, die eben diese Charakteristika bedingen. In Skelettmuskeln z. B. werden

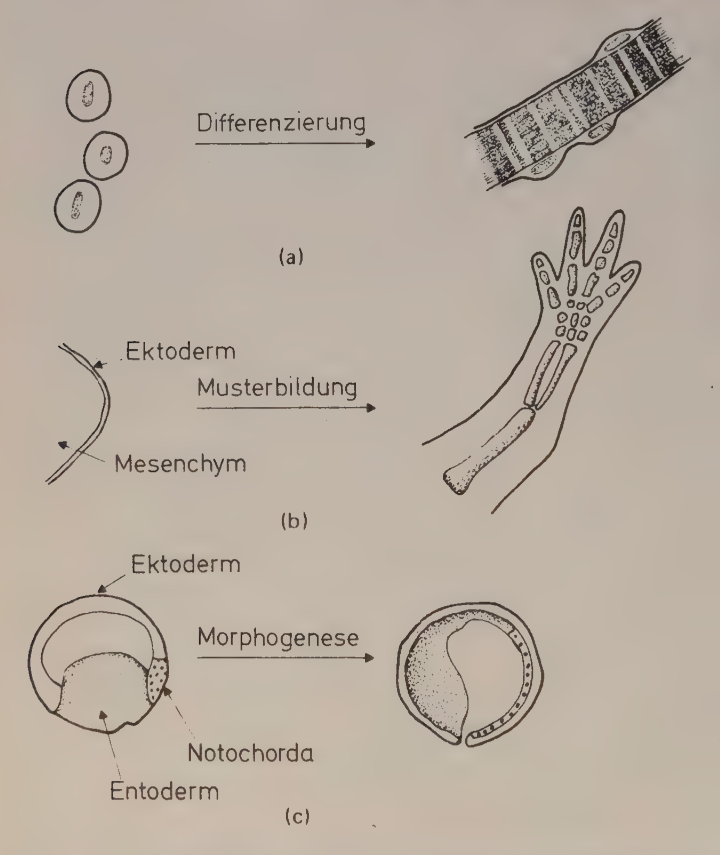


Abb. 1.1: a) Differenzierung: nicht differenzierte Mesenchymzellen wandeln sich in Muskelfasern um. b) Musterbildung: die Gliedmaßenknospe entwickelt sich zu einem Arm mit einem charakteristischen Muster in der Anordnung der Skelettelemente. c) Morphogenese: Längsschnitte durch die frühe und die späte Amphibiengastrula. Die Lageveränderung der Keimblätter läßt sich erkennen.

spezifische Proteine (Actin und Myosin) synthetisiert und dann so arrangiert, daß das typische Streifenmuster zustande kommt Abb. 1.1 a) (die Differenzierung ist das Thema eines anderen Bandes in dieser Reihe, der «Zelldifferenzierung» von J. M. Ashworth).

Die in den letzten Jahren in der Molekularbiologie erzielten Fortschritte führten zu beachtlichen Erkenntnissen auf dem Gebiet der Differenzierung und der biochemischen Aspekte der Entwicklung überhaupt. Aber es wäre mit größter Sicherheit falsch, nun etwa anzunehmen, die biochemische Obduktion eines Embryos könne zu einem vollen Verständnis der Entwicklungsprozesse führen. Denn derartige biochemische Untersuchungen sagen nur allzu oft nichts über einen ebenso wichtigen Vorgang aus, die Interaktion zwischen den Zellen. Die zwei noch verbleibenden Teilaspekte bei unserer Einteilung der Entwicklung sind denn auch in erster Linie Probleme der Wechselbeziehungen zwischen Zellen. Mit ihnen soll sich das vorliegende Buch befassen.

1.1.2. Musterbildung

Unter Musterbildung versteht man die räumliche Organisation der Differenzierung. Wenn wir uns mit Musterbildung beschäftigen, dann handelt es sich dabei nicht um den verwickelten Mechanismus, über den bestimmte Zellen sich zu z. B. Muskel- oder Knorpelzellen differenzieren, sondern um die Entwicklung von Muskeln und Knorpel in der richtigen wechselseitigen Beziehung, richtig sowohl was den Raum als auch was die Proportionen anbelangt. Die Entwicklung der Gliedmaßen der Wirbeltiere beginnt mit einer kleinen Knospe – einer Masse nicht differenzierter Mesenchymzellen, die von einer einschichtigen Lage von Ektodermzellen überzogen wird. Aus dieser Knospe entsteht eine Struktur, in der Muskeln, Knorpel, Nerven, Blutgefäße und Haut in einem ganz bestimmten Muster angeordnet sind (Abb. 1.1 b). Die Frage muß nun sein, wie dieses Muster zustande kommt.

1.1.3. Morphogenese

Unter Morphogenese faßt man die Prozesse zusammen, über die die Form des Organismus einschließlich der Anordnung seiner Gewebe zustande kommt. Zur Morphogenese gehört unter anderem eine koordinierte Bewegung von Zellen, wobei es sich bald um Einzelzellen, bald um große Zellgruppen handelt. Bei vielen Organismen ist die Gastrulation das auffallendste Beispiel. In der

Embryonalentwicklung von Amphibien etwa entsteht aus dem befruchteten Ei über Zellteilungen, die man hier Furchungen nennt, ein Hohlball aus Zellen, die Blastula. Alle drei Keimblätter, Ektoderm, Mesoderm und Entoderm befinden sich noch auf der Oberfläche der Blastula (Abb. 1.1 c). In der anschließenden Gastrulation bewegen sich Mesoderm und Entoderm ins Innere der Hohlkugel, während sich das Ektoderm nach entsprechender Dehnung darüber spannt. Ganz offensichtlich erfordert die Umordnung der embryonalen Gewebe im Zuge der Gastrulation eine außerordentlich genaue räumliche und zeitliche Koordinierung. Unsere Fragestellung ist nun, wie es zu den Bewegungen kommt und wie sie koordiniert werden.

1.2. Modellsysteme

Obgleich dieses Buch den Untertitel «Zelluläre Interaktionen in der Embryonalentwicklung» trägt, stammt eine Reihe von Beispielen, an denen die Probleme der Musterbildung und der morphogenetischen Bewegungen verdeutlicht werden sollen, nicht aus der Embryologie im eigentlichen Sinn. Der Grund hierfür liegt darin, daß man auf der Basis unseres derzeitigen Wissens annehmen darf, vorläufige Antworten auf Fragen der Embryonalentwicklung könnten auch ganz anderswo als am Embryo selbst erhalten werden. So gibt es zwei Beweggründe, die Regeneration von *Hydra* zu untersuchen (vgl. Kapitel 3). Der erste ist natürlich, die Regenerationsprozesse bei *Hydra* selbst besser kennenzulernen. Der zweite ist, daß man so möglicherweise allgemeingültige Aussagen zur Musterbildung nicht nur bei der Regeneration, sondern auch bei der normalen Entwicklung gewinnen könnte.

Der zweite Beweggrund führt uns zum Konzept der «Modellsysteme». Wenn ein Biologe mit einem Forschungsprojekt zur Klärung einer grundlegenden Frage der Entwicklung beginnt, muß er sich ein Forschungsobjekt aussuchen. Die Wahl dieses Objektes wird weitgehend davon abhängen, wie sich der betreffende Organismus zur Bearbeitung der gerade zur Diskussion stehenden speziellen Problemstellung eignet. Der Testorganismus wird dann gerne zum «Modellsystem» erhoben – in der stillen Hoffnung, daß die an ihm gewonnenen Daten allgemeingültig sein könnten. Bevor man hier jedoch endgültige Schlüsse zieht, muß jede hypothetische Extrapolation von einem «Modellsystem» auf Entwicklung generell im Experiment überprüft werden.

2. Musterbildung

2.1. Die Problemstellung

Das Problem, mit dem wir hier konfrontiert werden, ist die räumliche Organisation der zellulären Differenzierung. In der Regel entwickeln sich die erwachsenen Organismen aus einer einzigen Zelle, der befruchteten Eizelle – eine Entwicklung, die eine hochgradige Vielfalt in der Struktur mit sich bringt. Der adulte Organismus besteht aus vielen Millionen Zellen, die zu zahlreichen verschiedenen Zelltypen gehören. Obwohl nun keine zwei Organismen einer gegebenen Art identisch sind, weisen sie dennoch eine bemerkenswerte Ähnlichkeit auf. Denn all die aus den erwähnten Zelltypen aufgebauten Gewebe sind in den richtigen Proportionen und in der jeweils gleichen räumlichen Beziehung vorhanden.

Betrachten wir z. B. den normal entwickelten menschlichen Arm. Er setzt immer an der Schulter an und nicht etwa am Bauch oder Hinterkopf und er besteht stets aus vier Teilen, dem Oberarm, Unterarm, dem Handgelenk und der Hand, die ihrerseits immer in dieser Reihenfolge angeordnet sind. Außen am Arm befindet sich die Haut, nach innen folgen die Muskeln und dann in der Mitte die Knochen, wobei wir das komplizierte Muster von Nerven, Blutgefäßen und anderen Geweben einmal ganz außer acht lassen wollen. Diese Angaben klingen so selbstverständlich, daß sie kaum erwähnenswert erscheinen. Ganz und gar nicht selbstverständlich ist es aber, daß während der Entwicklung eine derart exakte Anordnung, ein derartiges Muster der vielen Teile und Gewebe des erwachsenen Organismus zustande kommt. Das Verständnis der Musterbildung bleibt eines der zentralen Probleme der Biologie der Entwicklung.

Die Problemstellung bleibt allerdings nicht auf die normale Entwicklung beschränkt. Viele ausgewachsene Organismen können verlorengegangene Teile regenerieren. Wenn ein Molch ein Bein verliert, wird Ersatz gebildet; wenn ein Regenwurm sein Hinterende verliert, wächst ein neues aus. Normalerweise ist das Regenerat ein genaues Ebenbild des verlorengegangenen Körper-

teils, wobei auch die richtige Proportion zum Gesamtkörper exakt erhalten bleibt. Wenn z. B. ein Molch einen Finger verliert, regeneriert er einen Finger; wenn aber sein Vorderbein am Ellbogengelenk abgetrennt wurde, regeneriert er den Unterarm, ein Handgelenk und eine Hand. Das Regenerat entspricht dem Verlust genau, es handelt sich weder um mehr noch um weniger. Wie kommt es zu einer derartigen Präzision?

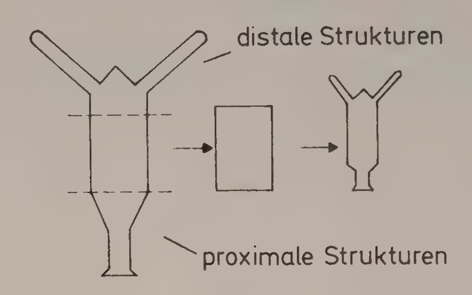


Abb. 2.1: Ein Stück aus der Gastralregion von *Hydra* bildet – vorausgesetzt, daß es nicht zu klein ist – Regenerate unter Beibehaltung der ursprünglichen Polarität. Zunächst ist das regenerierte Tier kleiner als das Ausgangstier, weil die Regeneration bei *Hydra* ohne Wachstum erfolgt: es handelt sich um ein Beispiel für Morphallaxis.

Musterbildung bei der Regeneration und Musterbildung bei der normalen Entwicklung müssen voneinander unterschieden werden. Denn im ersten Fall entstehen die Strukturen *de novo*, während sie im zweiten Fall dadurch zustande kommen, daß bereits vorhandene embryonale Strukturen in einen übergeordneten Organisationszustand überführt werden. Weiterhin muß man noch zwischen zwei Typen der Regeneration unterscheiden. Unter *Morphallaxis* versteht man eine Regeneration, bei der lediglich bereits vorhandene Körperstrukturen ohne Hinzufügen neuen Materials umorganisiert werden (Abb. 2.1). Die *Epimorphose* dagegen erfolgt unter Wachstum und Einbeziehung neuen Zellmaterials, wobei dann eine Differenzierung unter Musterbildung eintritt. Nach dem gegenwärtigen Stand unseres Wissens läßt sich allerdings vermuten, daß zwischen beiden Prozessen Übereinstimmungen vorhanden sind. Damit erscheint es gerechtfertigt, sie gemeinsam zu betrachten.

2.2. Allgemeine und theoretische Aspekte der Musterbildung

Schon seit langem wurden folgende drei Grundeigenschaften lebender Organismen für wichtige Faktoren bei der Regulation der zellulären Musterbildung gehalten:

2.2.1. *Polarität*

Bei der Regeneration eines Organs oder eines Organismus bleiben die ursprünglichen Achsen im allgemeinen erhalten. Wenn man z. B. ein Stück aus der Gastralregion von *Hydra* herausschneidet, regeneriert es an seinem distalen Ende distale Strukturen (Hypostom und Tentakel) und an seinem proximalen Ende proximale Strukturen (Stielstück und Basalscheibe) (Abb. 2.1). Die Organisation des Regenerates entlang seiner Längsachse ist also genau die gleiche wie im Ausgangstier. Die Regeneration erfolgt demnach polarisiert. Die Polarität ist dabei eine Eigenschaft des herausgeschnittenen *Hydra*-Stückes selbst, deren Expression bei der Regeneration nicht von der Anwesenheit proximaler oder distaler Strukturen abhängt.

Die Polarität ist schon von den allerersten Stadien der normalen Entwicklung an von ausschlaggebender Bedeutung. In vielen Fällen können eine oder mehrere Achsen des zukünftigen Organismus schon festgelegt sein, während er sich noch als Oocyte im Eierstock befindet.

2.2.2. *Axialgradienten*

Schon ältere Experimente zeigten, daß bestimmte Fähigkeiten entlang der Längsachse regenerationsfähiger Organismen gradweise abgestuft sind. Wenn man bestimmte Plattwürmer der Quere nach in gleiche Stücke zerschnitt, regenerierten die vordersten Teilstücke mit der größten Häufigkeit Köpfe. Die Häufigkeit, mit der Köpfe regeneriert wurden, nahm dann nach den hinteren Teilstücken zu ab. Berichte über entlang der Längsachse verlaufende Gradienten in der Regenerationsrate, in Stoffwechselaktivitäten und in der Empfindlichkeit gegenüber Giftstoffen liegen vor. Gradienten in der Stoffwechselaktivität wurden auch in Embryonen nachgewiesen, so der animal-vegetative Gradient in Seeigel-Embryonen (68).

2.2.3. *Apikale Dominanz*

Während der Regeneration wird die Apikalregion, d. h. das Hypostom bei *Hydra* oder der Kopf bei Plattwürmern zuerst ausge-

bildet. Einmal vorhanden, nimmt die Apikalregion in doppelter Hinsicht entscheidenden Einfluß auf die weiteren Regenerationsprozesse: erstens organisiert sie die Eigenschaften des Regenerates und zweitens hemmt sie die Ausbildung weiterer Apikalstrukturen.

Die Entdeckung von Axialgradienten und der apikalen Dominanz waren bei der Formulierung des Konzeptes eines morphogenetischen Feldes von Wichtigkeit. Ein solches morphogenetisches Feld wurde von Huxley und de Beer (69) als eine Region definiert, «innerhalb derer eine koordinierende Kraft derart wirksam wird, daß sich im Bereich des Feldes ein Gleichgewicht einstellt». Diese Definition ermöglichte es, ein Feldsystem von einem Mosaiksystem wie folgt zu unterscheiden: In einem Mosaiksystem hat die Entfernung eines Teiles keinen Einfluß auf den Rest des Systems. In einem Feldsystem dagegen beeinflußt die Entfernung eines Teiles das gesamte Feld und kann zu einer proportional entsprechenden Regulation, d. h. zur Neubildung eines kompletten Feldes führen. Das Feldkonzept war Anlaß zu Verwechslungen und Kontroversen, die von Waddington (138) diskutiert werden. Einzelheiten über ältere Arbeiten zur Musterbildung und zur Aufstellung der genannten Konzepte können den Büchern von Huxley und de Beer (69) und von Child (26) entnommen werden.

Nach einer Zeitspanne, in der biochemische und molekulare Aspekte der Entwicklung im Vordergrund standen, ist in den letzten Jahren das Interesse an den Problemen der Musterbildung wieder aufgelebt. Alte Hypothesen werden neu überdacht und einige neue hinzugefügt. Vor allem wäre hier die von Wolpert (147, 148) verfochtene Hypothese einer «Positionsinformation» zu erwähnen, die das Problem in einen neuen Rahmen stellt. Es handelt sich dabei um die Vorstellung, Zellen könnten

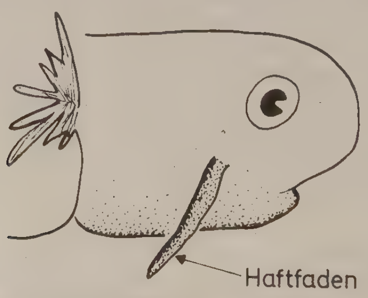


Abb. 2.2: Kopf der Kaulquappe eines Schwanzlurches mit Haftfaden.

ihre Position innerhalb eines Feldes unter Berücksichtigung bestimmter Bezugspunkte spezifizieren. Das Genom einer jeden Zelle könnte dann auf Grund dieser Positionsinformation die jeweils passende Differenzierungsweise induzieren. So könnte die Differenzierung, die ja innerhalb der Zellen mit einer differentiellen Genaktivität und einer entsprechend spezifischen Enzymsynthese eingeleitet wird, räumlich derart koordiniert werden, daß schließlich das Gesamtzellmuster des Organismus resultiert.

Wenn auch im nächsten Kapitel eine Reihe von Beispielen für Musterbildungen gegeben werden soll, wird es sicher von Nutzen sein, schon an dieser Stelle wenigstens einen Beleg für die Wechselbeziehungen zwischen dem Genom der Zellen und ihrer Position innerhalb des Organismus zu bringen. Etwas unter und hinter dem Auge der meisten Schwanzlurchkaulquappen findet sich eine ektodermale Struktur, der sog. Haftfaden (Abb. 2.2). Obwohl der Haftfaden normalerweise nur an dieser Stelle entsteht, kann auch aus anderen Teilen des Embryos hierher transplantiertes Ektoderm einen Haftfaden ausbilden. In der Fachsprache: Ektoderm aus anderen Körperregionen besitzt die Kompetenz, Haftfäden zu bilden. Transplantiert man nun ein Stück prospektives Haftfadenektoderm an die entsprechende Stelle einer anderen Art, die normalerweise keine Haftfäden aufweist, so differenziert es dort ebenfalls zu einem Haftfaden aus. Das Gegenexperiment – Transplantation eines Ektodermstückes aus der betreffenden Region einer Art ohne Haftfäden in die entsprechende Region einer Art mit Haftfäden – führt nicht zur Bildung eines Haftfadens. Die Versuche (82, vgl. 13) lassen erkennen, daß das Ektoderm in einem gegebenen Organismus positionsspezifisch reagiert, auch wenn der Organismus einer anderen Art angehört. Aber die Qualität der Reaktion hängt vom Genom des Ektodermstückes ab, d. h. von der Art, aus dem es stammt.

Wolpert benützt das Modell der «Französischen Flagge», um seine Vorstellung von der Positionsinformation zu verdeutlichen. Gegeben sei eine Reihe von Zellen, von denen jede einzelne sich so differenzieren kann, daß sie entweder blau oder weiß oder rot wird. Wie kann aus ihnen unter diesen Voraussetzungen das Muster einer Französischen Flagge entstehen, die ja von links nach rechts gleich große blaue, weiße und rote Flächen aufweist? Eine Erklärungsmöglichkeit hierfür wäre, daß die Position jeder einzelnen Zelle in bezug auf die Endpunkte der Zellreihe spezifiziert ist. An den Endpunkten könnten z. B. jeweils verschiedene Konzentrationen einer diffusiblen Substanz aufrecht erhalten

werden. Dann müßte sich entlang der Zellreihe ein Gradient an dieser Substanz ausbilden. Ein Muster könnte entstehen, wenn die Zellen auf verschiedener Höhe des Gradienten, also bei verschiedenen Konzentrationen der den Gradienten bedingenden Substanz, mit unterschiedlichen Differenzierungsleistungen reagierten. In unserem Beispiel würde sie bei hohem Niveau der betreffenden Substanz blau, bei mittlerem weiß und bei niederem rot (Abb. 2.3). Eine proportional entsprechende Regulation wäre

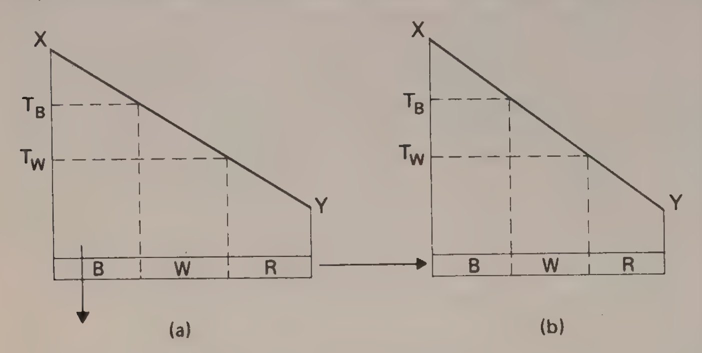


Abb. 2.3: Das Modell der Französischen Flagge. a) Entstehung des Musters. An den beiden Enden einer Zellreihe werden unterschiedliche Konzentrationen, X und Y, an einer diffusiblen Substanz aufrecht erhalten. Ein Gradient an dieser Substanz entsteht. Die Differenzierung der Zellen zu Blau, Weiß oder Rot hängt von einer Schwellenreaktion auf die Substanzkonzentration ab. Wenn das Substanzniveau T_B überschreitet, werden sie blau; liegt es zwischen T_B und T_W, werden sie weiß; liegt es unter T_W, so werden sie rot. b) Aufregulation. Wenn in Höhe des Pfeiles in (a) ein Schnitt gelegt wird, stellt sich an der Schnittfläche das ursprüngliche Substanzniveau X wieder ein. Der Gradient wird nun steiler, aber da die Zellen die gleichen Reizschwellenwerte (T_B und T_W) beibehalten, kann eine zwar kleinere, aber ebenso proportionierte Französische Flagge gebildet werden (nach Wolpert, 148).

denkbar, wenn sich an einer Schnittfläche das gleiche Substanzniveau einstellte wie an dem ursprünglichen, aber jetzt abgeschnittenen Ende (Abb. 2.3 b).

Die Hypothese von der Positionsinformation und das Modell der Französischen Flagge lassen Aussagen darüber zu, wozu ein Muster-spezifizierender Mechanismus in der Lage sein sollte. Das Modell greift in modifizierter Form die bekannten Konzepte

des Axialgradienten, der Polarität (der Gradient fällt in einer bestimmten Richtung ab und seine beiden Enden sind voneinander verschieden) und der apikalen Dominanz (die Enden bestimmen das Niveau des Gradienten) wieder auf. Neu ist an der Hypothese, welche Art von Information diese Faktorenkombination den Zellen mitteilen könnte: sie könnte jede einzelne Zelle instandsetzen, ihre Position innerhalb des Gradienten zu «erkennen» und sich dementsprechend zu differenzieren.

In der Tat wäre es am einfachsten, die Positionsinformation über einen axialen Konzentrationsgradienten einer diffusiblen Substanz festzulegen. Ein derartiger Gradient könnte auf verschiedene Weise zustande kommen. Z. B. könnte die betreffende Substanz an dem einen Ende des Systems produziert und an seinem anderen Ende abgebaut werden. Wolpert hat festgestellt, daß morphogenetische Felder meistens nicht mehr als 50 Zellen lang sind (d. h. weniger als 2 mm), und vermutet, daß die zur Signalisierung der Position notwendige Zeit in der Größenordnung von Stunden liegen könnte. Unter bestimmten Annahmen u. a. hinsichtlich der Diffundierbarkeit der Substanz oder der Membranpermeabilität hat Crick (31) klargelegt, daß man in dieser Zeitspanne zumindest im Prinzip einen Gradienten von einigen mm Länge aufbauen könnte.

Eine andere interessante Möglichkeit, die Position zu signalisieren, geht nicht von einem Gradienten aus. Es handelt sich dabei um das Phasenverschiebungsmodell von Goodwin und Cohen (54). Die Differenz im Phasenwinkel zwischen zwei Wellen biochemischer Aktivität, die von einer Schrittmacherzelle – in der dominanten Region – ausgingen und sich von Zelle zu Zelle fortpflanzten, könnte die Position spezifizieren. Es würde sich hier um ein Verfahren analog zu dem handeln, die Entfernung eines Gewitters über die Zeitspanne zwischen Blitz und Donner abzuschätzen.

Wolpert auf der einen und Goodwin und Cohen auf der anderen Seite interpretierten verschiedene Musterbildungen unter Zugrundelegen ihrer jeweiligen Hypothesen. Wir werden nun zur Besprechung spezieller Fälle von Musterbildung übergehen und dabei den Modus der experimentellen Bearbeitung demonstrieren. In einigen Fällen sollen experimentelle Daten ohne eingehende Interpretation gegeben werden, während in anderen die Interpretationen der betreffenden Resultate ausführlicher entwickelt werden sollen. Wo keine Interpretationen gegeben werden, mag sich der Leser selbst daran versuchen; wo sie gegeben werden,

sollte er versuchen, sie kritisch zu überdenken. Ein interessantes Spiel wäre, sich vorzustellen, man könnte eine noch nicht im Experiment geklärte Frage zu jedem System stellen. Welche Frage sollte man dann wohl wählen, um ein Maximum an Informationen über den Mechanismus der Musterbildung zu erhalten? Da es sich jedoch um ein ziemlich schwieriges Spiel handelt, sollte man sich durch Mißerfolge nicht entmutigen lassen.

Methoden zum Zelltest:

- Immunologie
- Histochemie
- Ultrastrukturforschung
- Verhaltensanalyse

3. Spezielle Beispiele für Musterbildungen

3.1. Die zellulären Schleimpilze: ein einfaches zweiteiliges Muster

Der Schleimpilz *Dictyostelium discoideum* weist das einfachste bekannte Zellmuster auf. Es bildet sich während der Entstehung des Fruchtkörpers aus, der nur aus zwei Zelltypen zusammengesetzt ist, aus Sporen und Stielzellen. Die Fruchtkörper unterscheiden sich in ihrer Größe ganz erheblich. Dennoch werden Sporen und Stielzellen immer im gleichen Verhältnis ausgebildet, das beim Wildtyp rund 2:1 beträgt – ein Muster also, das von der Größe unabhängig ist (18). Der Fruchtkörper entsteht aus einer schneckenförmigen, wandernden Amöbenmasse, dem Migrationspseudoplasmodium. Obgleich das Migrationspseudoplasmodium homogen erscheint, läßt sich mit Methoden der Immunologie, Histochemie, Ultrastrukturforschung und Verhaltensanalyse belegen, daß die Musterbildung normalerweise schon wäh-

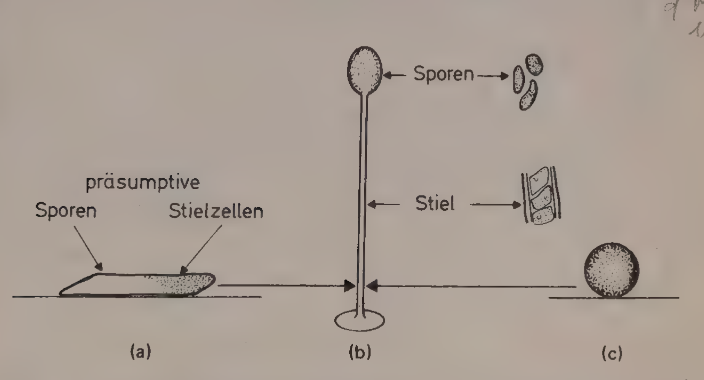


Abb. 3.1: Musterbildung bei *Dictyostelium discoideum.* Der Fruchtkörper (b) besteht aus zwei Zelltypen, Sporen und Stielzellen (rechts jeweils vergrößert). Er kann aus dem Migrationspseudoplasmodium (a) gebildet werden, in dem sich präsumptive Sporen bzw. präsumptive Stielzellen befinden, aber auch direkt aus einem Aggregat von Einzelzellen (c).

rend der Wanderung des Pseudoplasmodiums ihren Anfang nimmt (18). Die Zellen an der Front des Migrationspseudoplasmodiums werden zu präsumptiven Stielzellen, diejenigen an seinem Hinterende zu präsumptiven Sporenzellen. Die Migrationsphase selbst ist dabei für die Musterbildung nicht unbedingt notwendig, denn manchmal können Fruchtkörper in einem frühen Stadium des Entwicklungszyklus direkt aus rundlichen Zellaggregaten entstehen (47) (Abb. 3.1).

Ein Experiment, das Raper (97) am Migrationspseudoplasmodium durchführte, kann uns zweierlei demonstrieren: erstens kann das Muster aufreguliert werden und zweitens finden sich

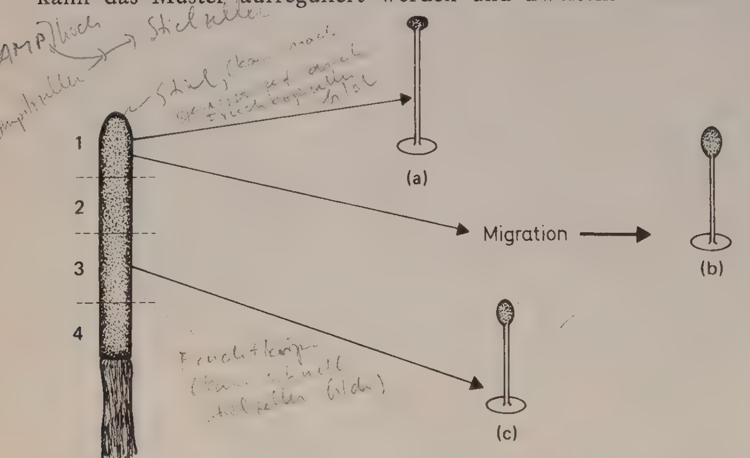


Abb. 3.2: Rapers Versuch. Das Migrationspseudoplasmodium wurde in vier Teile (von vorne nach hinten mit 1–4 numeriert) zerlegt. Brachte man Stück 1 sofort nach der Isolierung zur Fruchtkörperbildung, so bestand dieser überwiegend aus einem Stiel (a). Nach einer Wanderung von 24 Stunden bildete Stück 1 dagegen einen Fruchtkörper von annähernd normalen Proportionen aus (b). Stück 3 konnte sofort nach der Isolierung einen normalen Fruchtkörper ausbilden (c) (nach Raper, 97).

Unterschiede zwischen Vorder- und Hinterende. Das Pseudoplasmodium wurde quer in vier Stücke von ungefähr gleicher Größe zerlegt (Abb. 3.2). Stücke vom Hinterende hörten auf zu wandern und bildeten innerhalb weniger Stunden Fruchtkörper mit einem normalen Verhältnis Stiel- zu Sporenzellen aus. Das Muster wurde also aufreguliert. Das Stück von der Spitze des Migrationspseudoplasmodiums ließ sich dazu bringen, sofort zur

Fruchtkörperbildung überzugehen. Man konnte es aber auch weiterhin wandern lassen. Im ersten Fall wurde ein abnormer Fruchtkörper gebildet, der hauptsächlich oder gar vollständig aus einem Stiel bestand. Wurde jedoch – im zweiten Fall – die Wanderung zunächst fortgesetzt, so kam es allmählich zu einer Wiederherstellung der Normalsituation. Nach ungefähr 24 Stunden war das Spitzenstück dann in der Lage, einen Fruchtkörper mit Zellproportionen auszubilden, die der Norm näher kamen. Demnach scheint es so, als könnten die präsumptiven Sporenzellen am Hinterende recht rasch zu Stielzellen werden, während präsumptive Stielzellen erheblich mehr Zeit benötigen, um zu Sporenzellen umzuschlagen.

Welcher Mechanismus steht nun hinter der Musterbildung dieses Schleimpilzes? Das Migrationspseudoplasmodium bildet sich über eine chemotaktische Aggregation (vgl. Kapitel 5 und 6) einzelner amöboider Zellen. Eine Annahme geht dahin, die beiden erwähnten Zelltypen seien in der Zellpopulation schon vor der Aggregation vorhanden, so daß es im Migrationspseudoplasmodium nur noch zu einem Aussondern käme (121, 21). Über ein derartiges – eventuelles – Aussondern ließe sich jedoch kaum das ganze Geschehen erklären, da das Muster ja der Aufregulation fähig ist. Wenn zwei Zelltypen vorhanden wären, könnten sie demnach im Migrationspseudoplasmodium nicht irreversibel zu Stiel- bzw. Sporenzellen determiniert sein. Denn nach Zerlegen des Migrationspseudoplasmodiums können ja Zellen des einen Typs wie erwähnt in den jeweils anderen Typ umgewandelt werden. Vermutlich gibt es einen das Muster determinierenden Mechanismus im Migrationspseudoplasmodium, über den allerdings nahezu nichts bekannt ist. Vielleicht kann ein Experiment aus jüngerer Zeit hier weiterhelfen, in dem Schleimpilzzellen in einer hohen Konzentration an zyklischem AMP (cAMP) gehalten worden waren: sie wurden zu Stielzellen (19).

Im Augenblick jedenfalls gibt es keine alles umfassende Hypothese zum Mechanismus der Musterbildung bei Schleimpilzen. Für Leser, die sich ihre eigene Meinung bilden möchten, sei ein Buch Bonners (18) als gute Übersicht und als Literaturquelle empfohlen.

3.2. Hydra: ein Modell für einen Reizschwellengradienten

Im Gegensatz zu älteren Auffassungen ist die Regeneration bei *Hydra* ganz offensichtlich ein Beispiel für Morphallaxis. Denn in der sub-hypostomalen Region befindet sich keine

Wachstumszone und auch während der Regeneration kommt es zu keinem apikalen Wachstum (22, 27).

Das Hypostom ist eine im geradezu klassischen Sinn dominante Region. Pfropft man es auf die Gastralregion eines anderen Tieres, so organisiert es dort die Bildung von Tentakeln und einer neuen Achse. Es weist auch hemmende Wirkungen auf. Wenn man Hypostom und Tentakel abschneidet, so werden sie regeneriert. Wenn man nun aber das Hypostom entfernt und gleichzeitig ein neues Hypostom seitlich auf die Gastralregion oder auch nach Entfernung des Stielstückes auf das proximale Ende der Gastralregion aufpfropft, wird die Regeneration am distalen Ende der als Pfropfunterlage dienenden *Hydra* – also die Ausbildung von Hypostom und Tentakeln von der Schnittstelle aus – gehemmt (142).

Zwei interessante Experimente führten zu einer Modellvorstellung, über die man die Regulation bei *Hydra* erklären könnte (142, 140). Wenn man *Hydra* quer schneidet, erlangen die distalen Enden der proximalen Segmente Hypostomeigenschaften, be-

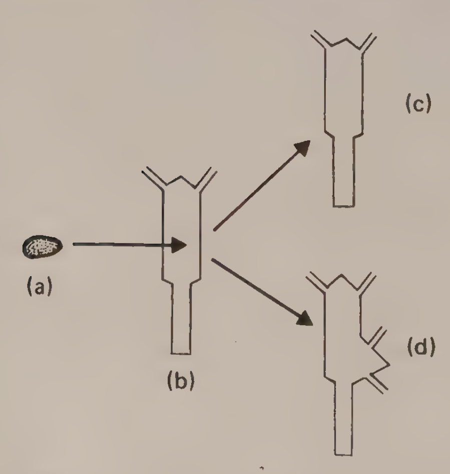


Abb. 3.3: Der Test auf Hypostombildung. Ein isoliertes *Hydra*-Fragment (a) wurde nach einer bestimmten Erholungsperiode in die Gastralregion einer Empfänger-*Hydra* transplantiert (b). Hatte das Fragment noch keine Hypostomeigenschaften angenommen, so wurde es absorbiert (c). Wies es jedoch Hypostomeigenschaften auf, so induzierte es eine neue Achse und einen neuen Satz distaler Strukturen (d). Zu den Begriffen distal und proximal vgl. Abb. 2.1 (teilweise nach Webster, 140).

vor irgendein Anzeichen für Hypostombildung erkennbar wird. Gleich große Querscheiben wurden in verschiedener Körperhöhe herausgeschnitten und dann verschieden lange nach ihrer Isolierung auf die Gastralregion anderer Tiere aufgepfropft (Abb. 3.3). Wenn das transplantierte Stück bereits Hypostomeigenschaften erlangt hatte, wurde in der Pfropfunterlage eine neue Achse induziert, wenn nicht, wurde das übertragene Stück absorbiert. Dabei erwies es sich, daß hinsichtlich der für die Determinierung zum Hypostom notwendigen Zeitspanne ein distal-proximaler Gradient vorhanden ist: die betreffende Zeitspanne war in der sub-hypostomalen Region viel kürzer als im Stielstück (Abb. 3.4). Halten wir also fest: es existiert ein Gradient hinsichtlich der zur Hypostom-Determinierung notwendigen Zeitspanne.

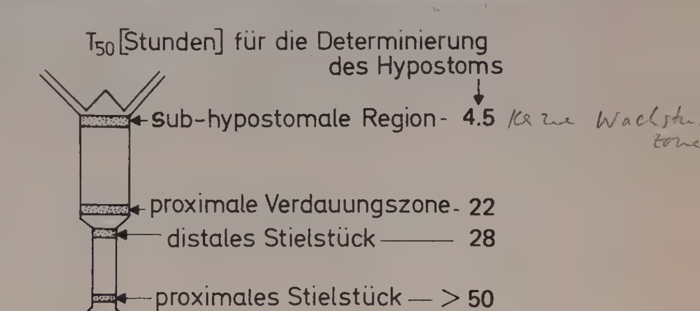


Abb. 3.4: Die Ergebnisse von entsprechend Abb. 3.3 durchgeführten Experimenten. Links im Schema die getesteten Körperpartien von *Hydra.* Die Kolumne rechts bringt die T-Werte für die jeweiligen Körperpartien, d. i. die Erholungszeit vor der Transplantation, nach der jeweils die Hälfte der isolierten Fragmente im Empfängertier eine neue Achse induzierte (nach Webster und Wolpert, 142, und Webster, 140).

In weiteren Experimenten wurde die sub-hypostomale Region aus einem Tier entfernt und direkt in die Gastralregion eines anderen Tieres transplantiert. Sie wurde absorbiert. Nur wenn man das Hypostom des Transplantatempfängers zuvor entfernt hatte, wurden zwei Achsen regeneriert. Wurde nun aber eine subhypostomale Region auf die Basalscheibe eines Empfängertieres transplantiert, so bildetete sich eine zweite Achse – ganz gleich, ob das Hypostom des Empfängertieres entfernt worden war oder nicht. Ein Hypostom hemmt also die Ausbildung eines weiteren

Hypostoms, aber die Stärke dieser Hemmwirkung nimmt mit der Entfernung von diesem ersten Hypostom ab.

Folgende, schon erwähnte Modellvorstellung basiert auf diesen und weiteren Experimenten (Abb. 3.5): Nehmen wir einmal an, das Hypostom produziere eine Substanz, die die weitere Hypostombildung hemmt und die außerhalb des Hypostoms abgebaut wird. Dann kommt es zur Ausbildung eines distal-proximalen Gradienten an diesem Hemmstoff. Nehmen wir des weiteren an, in den Zellen sei eine Reizschwelle gegenüber dem Hemmstoff vorhanden, die einen Gradienten in gleicher Richtung aufweist. Wenn die endogene Konzentration an Hemmstoff – wie im intakten Tier immer – oberhalb der Reizschwelle liegt, können die Zellen kein Hypostom ausbilden. Wenn das Hemmstoffniveau unter die Reizschwelle absinkt, setzt die Hypostombildung ein. Zellen am distalen Ende, die ein Hypostom bei höherer Hemmstoffkonzentration bilden können als Zellen am proximalen Ende, würden dann zuerst mit der Hypostombildung beginnen,

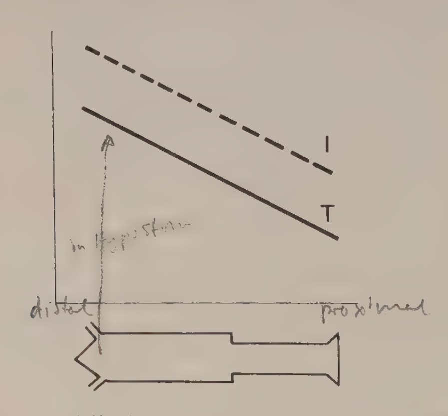


Abb. 3.5: Das Modell des Reizschwellengradienten. Websters chlug einen distal-proximal abfallenden Gradienten eines Hemmstoffes (I) und einen ebenso verlaufenden Gradienten in der Reizschwelle der Zellen auf diesen Hemmstoff (T) vor. Dem Diagramm zufolge liegt die Reizschwelle in distalen Regionen höher als das Hemmstoffniveau in proximalen Regionen. Infolgedessen kann eine sub-hypostomale Region, die in die Stielregion transplantiert wird, nicht daran gehindert werden, dort ein Hypostom auszubilden. Vom Hemmstoff I wird angenommen, daß er im Hypostom produziert und außerhalb des Hypostoms abgebaut wird. Der Leser mag sich selbst überlegen, was geschieht, wenn das Hypostom abgeschnitten wird (aus Webster, 140).

die Hemmstoffproduktion wieder aufnehmen und so die Ausbildung weiterer Hypostome in den proximalen Körperteilen unterbinden. Weitere Punkte zugunsten dieses Modells führt Webster (141) an.

Das Modell wurde etwas genauer behandelt, weil sich an ihm aufzeigen läßt, wie man heute das Problem der Musterbildung experimentell und theoretisch angehen kann. Es handelt sich allerdings keineswegs um die einzige Hypothese zur Regeneration bei den *Hydrozoa*. Eine interessante Alternative weist Rose (98) auf. Er arbeitete mit dem marinen Hydroidpolypen *Tubularia*, der eine komplexere Struktur als *Hydra* aufweist. Seiner Auffassung nach gibt es eine «Hierarchie selbst-limitierender Reaktionen». Grob gesagt soll das bedeuten, daß jede Körperregion einen Hemmstoff produziert, der eine gleichartige Differenzierung in einer weiter proximal liegenden Region verhindert. In der letzten Zeit wurden einige Daten erbracht, die für diese Hypothese sprechen (99). Aus verschiedenen Körperregionen entlang der Längsachse wurden Faktoren isoliert, die eine Regeneration entsprechender Strukturen am distalen Ende weiter proximal liegender Regionen hemmten. Es scheint sich bei ihnen um basische Proteine zu handeln.

Noch etwas neuere Arbeiten lenkten die Aufmerksamkeit auf die Polarität und die Bedeutung der proximalen Regionen. Wilby und Webster (145) berichteten, daß eine totale Umkehr der Polarität bewirkt werden kann, wenn man ein Hypostom auf die proximale Gastralregion eines Tieres transplantiert, dessen eigenes Hypostom zuvor entfernt worden war (Abb. 3.6 a). Die sub-hypostomale Region bildet dann einen Stiel anstelle eines Hypostoms. Eine noch weitergehende Umkehrung der Polarität läßt sich erreichen, wenn man nicht nur wie eben beschrieben ein Hypostom überträgt, sondern außerdem noch ein Stielstück an die Stelle des entfernten Hypostoms pfropft (Abb. 3.6 b). Auch ein Stielstück allein, das man so transplantiert, kann eine partielle Polaritätsumkehr induzieren. Es entsteht dann ein Tier mit Basalscheibe und Stielstück an beiden Seiten (Abb. 3.6 c links). Diese Experimente zur Umkehr der Polarität führten oft zur Bildung seitlicher Hypostome zwischen der mittleren Gastralregion des Transplantatempfängers und der Verbindungsfläche zwischen Empfänger und Transplantat (Abb. 3.6 c rechts). Die Autoren schlagen zur Erklärung ihrer Ergebnisse vor, es existiere entlang der Längsachse ein Gradient an einer diffussiblen Substanz, die von den Zellen vom proximalen zum distalen Ende gepumpt

werden könne (aktiver Transport; Einzelheiten in 145). Ein interessanter Punkt bei diesen Experimenten ist, daß wir hier zum ersten Mal auf eine Hypostombildung in der mittleren Gastralregion stoßen, die nicht unmittelbar an einer Schnittfläche und außerdem im rechten Winkel zur Hauptachse erfolgt.

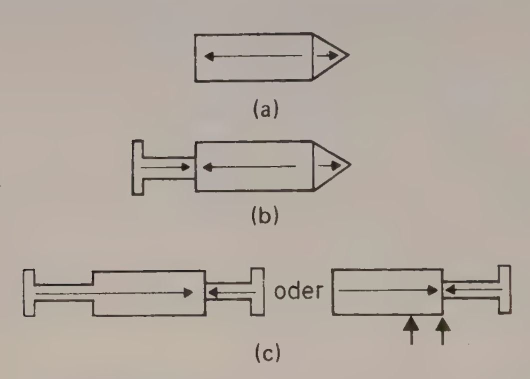


Abb. 3.6: Pfropfkombinationen, die bei *Hydra* zur Polaritätsumkehr führen können. Die Pfeile zeigen die ursprüngliche proximal-distale Längsachse der Teilstücke an. a) Pfropfung eines Hypostoms auf das proximale Ende der Gastralregion. b) Pfropfung eines Hypostoms und eines Stielstückes auf die Gastralregion. c) Pfropfungen von Stielstükken. Die kurzen Pfeile im rechten Teil der Abb. deuten an, in welchen Positionen manchmal seitliche Hypostome gebildet werden konnten (teilweise nach Wilby und Webster, 145).

Wolpert, Hicklin und Hornbuch (150) weisen jedoch darauf hin, daß kein Fall bekannt sei, in dem ein aktiver Transport einer Substanz *von Zelle zu Zelle* stattfände. Sie berichten über weitere Experimente zur Polaritätsumkehr und über andere Versuche zur Bedeutung der Basalscheibe – des Fußes. Wenn ein Stielstück auf die Gastralregion eines Empfängers gepropft wird, bildet es einen Fuß aus. Man kann dann die Determination zum Fuß ebenso testen wie die zum Hypostom (142). Dabei stellte es sich heraus, daß die zur Determination eines Fußes notwendige Zeit mit zunehmendem Abstand vom Hypostom abnahm. Sie betrug an der Basis der Gastralregion nach Entfernung der proximalen Strukturen 4 Stunden, in der sub-hypostomalen Region dagegen 72 Stunden. Das Hypostom übt eine Hemmwirkung auf die Determination des Fußes aus. Denn wenn man das Hypostom ebenso wie die proximalen Regionen entfernt, beansprucht

die Determination eines Fußes an der Basis der Gastralregion nur die bemerkenswert kurze Zeitspanne von 1 Stunde. Was die Rolle des Fußes anbelangt, so nimmt man an, daß er entweder das Substanzniveau an dem einen Ende eines distal-proximal verlaufenden stofflichen Gradienten bestimmt oder als selbständige dominante Region fungiert und dabei spiegelbildlich zum Vorderende eine funktionell wichtige Substanz produziert.

Ebenso wie als Beispiele für eine moderne Bearbeitung der Musterbildung sind die neueren Experimente an *Hydra* in historischem Zusammenhang von Interesse. Ganz selbstverständlich hält man die früher erfaßten Faktoren, apikale Dominanz, Axialgradienten und Polarität, nach wie vor für entscheidend wichtig, wenn auch in etwas modifizierter Form. Das Problem ist nun, diese Faktoren in biochemischer und biophysikalischer Hinsicht zu definieren und herauszufinden, wie sie bei einer proportional richtigen Aufregulation in den betreffenden Tieren zusammenwirken. Warum ist man denn dann in den neueren Arbeiten eigentlich nicht mit einer mehr biochemisch orientierten Methodik an diese Fragen herangegangen? Ein Grund ist, daß das Verständnis der Eigenschaften und Fähigkeiten eines Systems, gekoppelt mit dem Entwerfen von Modellvorstellungen, uns in die Lage versetzen könnte, auch eine Aussage hinsichtlich der eingeschalteten biochemischen Mechanismen zu machen (vgl.

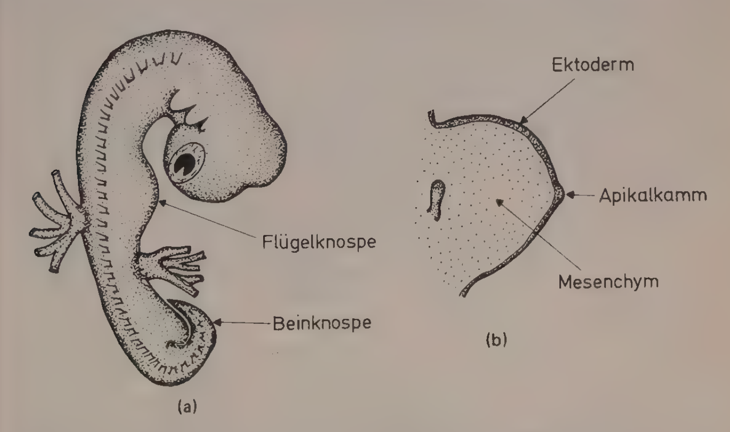


Abb. 3.7: Struktur einer Gliedmaßenknospe. a) Hühnerembryo im Stadium 21 (nach Hamburger und Hamilton) mit Gliedmaßenknospen. b) Schnitt durch eine Gliedmaßenknospe mit Ektoderm, Mesenchym und Apikalkamm. a) Nach Amprino (9); b) nach Saunders (105).

32). Ohne diese Grundlage könnte sich das Auffinden der biochemischen Prinzipien als viel schwieriger erweisen als die sprichwörtliche Suche nach der Stecknadel im Heuhaufen.

3.3. Die Entwicklung von Gliedmaßen: Interaktionen zwischen Ektoderm und Mesenchym

Beim Hühner-Embryo tritt der Flügel zuerst als winzige Knospe ungefähr drei Tage nach Beginn der Entwicklung (= Stadium 16 nach Hamburger und Hamilton) (Abb. 3.7 a) in Erscheinung. Die Knospe besteht aus einem mesenchymalen Kern und einer eine Zellage dicken äußeren ektodermalen Schicht. Bald nach dem Erscheinen der Knospe verdickt sich das an ihrer Spitze liegende Ektoderm und bildet den Apikalkamm, der den Knospenrand von vorne nach hinten umläuft (Abb. 3.7 b). Mesoderm wie Ektoderm, und hier vor allem der Apikalkamm, üben bei der Gliedmaßenentwicklung offensichtlich spezifische Funktionen aus.

Saunders (105) zeigte, daß die Längsorganisation der Gliedmaßenstrukturen zwischen Tag 3 und 4 der Entwicklung (Stadien 17–21 nach Hamburger und Hamilton) vom Rumpf ausgehend in Richtung Knospenspitze erfolgt. Zuerst bildet sich also der prospektive Oberarm, gefolgt vom prospektiven Unterarm und von der prospektiven Hand (Abb. 3.8). Die 4 Tage alte Glied-

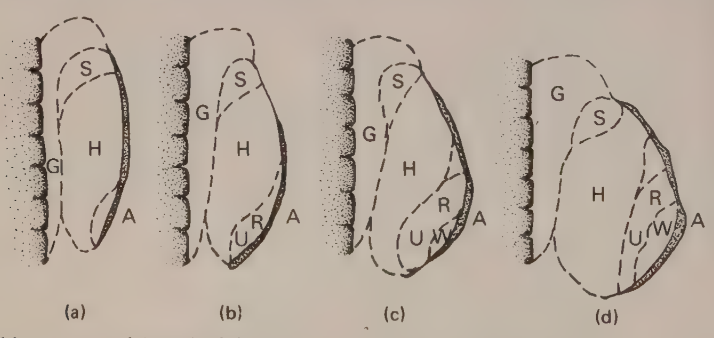


Abb. 3.8: Aufeinanderfolgende Stadien in der Entwicklung der Flügelknospe mit den verschiedenen prospektiven Flügelregionen. Der Apikalkamm (A) umläuft den ganzen äußeren Rand der Knospe von vorne nach hinten. G = prospektiver Schultergürtel; S = prospektives Schultergelenk; H = prospektiver Oberarm; R = prospektive Speiche; U = prospektive Elle; W = prospektives Handgelenk und Hand (nach Saunders, 105).

maßenknospe ist jedoch kein Mosaik, denn ihre Teile sind nicht irreversibel determiniert. Hampé (62) entfernte das Mittelstück einer Gliemaßenknospe und pfropfte die Spitze dann unmittelbar auf den Stumpf. Es kam zur Regulation, so daß eine normale Gliedmaßenknospe entstand.

Saunders (105) konnte auch die Funktion des Apikalkammes bei der Längsorganisation demonstrieren. Die Entfernung des Kammes führte zum Ausfall aller distalen Strukturen (Abb. 3.9). Je später man den Kamm entfernte, desto normaler waren die entstehenden Gliedmaßen. In der Folge kam es dann zu Meinungsverschiedenheiten hinsichtlich der Bedeutung des Apikalkammes. Die jeweiligen Argumente werden von Zwilling (155), Amprino

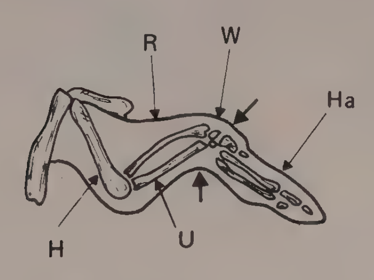


Abb. 3.9: Normale Flügelstrukturen und Auswirkungen einer Entfernung des Apikalkammes. Die Zeichnung zeigt die Flügelumrisse und die Flügelknochen, wie sie normalerweise ungefähr am 11. Tag der Entwicklung vorhanden sind. Entfernt man den Apikalkamm der Flügelknospe im Stadium 21 nach Hamburger und Hamilton (d. i. ungefähr am Tag 4), werden die Strukturen spitzenwärts der Pfeile nicht ausgebildet. Abkürzungen wie in Abb. 3.8; Ha = Hand (nach Saunders, 105).

(9) und Faber (39) aufgeführt. Einige Punkte zugunsten des Apikalkammes seien im folgenden erwähnt: Bei flügellosen Mutanten bildet sich der Kamm schon sehr früh während der Knospenentwicklung zurück. Pfropft man auf eine Knospe einen zweiten Kamm, so kommt es zu einer Verdoppelung der distalen Flügelstrukturen. Fragmente aus Mesoderm, die man auf die Chorio-Allantois pfropft, entwickeln sich nur dann zu eindeutigen Gliedmaßenstrukturen, wenn man sie in eine Hülle aus Ektoderm mit einem Apikalkamm einschließt. Wenn man jedoch Gliedmaßenmesoderm früh genug in der Entwicklung in die

Flanken pfropft, bildet das Ektoderm der Körperseiten einen Kamm. Dann kommt es zur Flügelbildung.

Besonders interessant in Hinblick auf die Rolle des Apikalkammes sind Experimente, in denen die Spitze der Knospe zuerst abgenommen, um ihre Längsachse gedreht und dann wieder aufgesetzt wurde. Eine Rotation der Spitze um 90° führte zu einer Rotation um ebenfalls 90° in den distalen Strukturen des fertigen Flügels. Eine Rotation um 180° hatte eine Verdopplung der

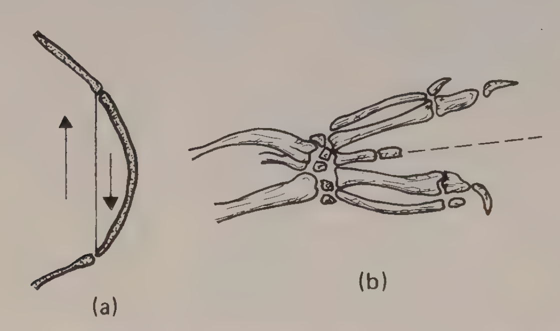


Abb. 3.10: Rotation der Apikalregion um 180°. a) Das Experiment. Die Pfeile zeigen in die ursprüngliche Vorderrichtung in Stumpf wie rotierter Spitze. b) Das Ergebnis. Die distalen Strukturen werden spiegelbildlich verdoppelt. Die gestrichelte Linie gibt die Symmetrieachse an (nach Saunders und Gasseling, 106).

distalen Strukturen zur Folge. Die beiden Sätze an distalen Strukturen waren dabei spiegelbildlich angeordnet: der vordere Satz war so orientiert wie derjenige des normalen Flügels auf der anderen Körperseite (Abb. 3.10) (106).

Das Muster der Achsenstrukturen kann auch durch die Transplantation einer kleinen Mesodermregion beeinflußt werden, die man die Hintere Nekrotische Zone (HNZ) nennt. Sie hat ihren Namen daher, daß sie sich am hinteren Rand der Gliedmaßenknospe nahe bei ihrem Ansatz am Rumpf befindet und daß in ihrem Bereich viele Zellen absterben. Eine Transplantation der HNZ an die Spitze der Gliedmaßenknospe führt wieder zu einer Verdoppelung der distalen Strukturen. Allerdings sind sie jetzt nicht spiegelbildlich angeordnet. Vielmehr weisen beide Sätze an distalen Strukturen genau die für das betreffende Glied normale Orientierung auf (Abb. 3.12 a). Eine spiegelbildliche Verdoppelung

kommt zustande, wenn man die HNZ an den vorderen Rand der Gliedmaßenknospe transplantiert. Das Ergebnis entspricht dann exakt dem nach Rotation der Spitze um 180° (Abb. 3.12 b; vgl. Abb. 3.11).

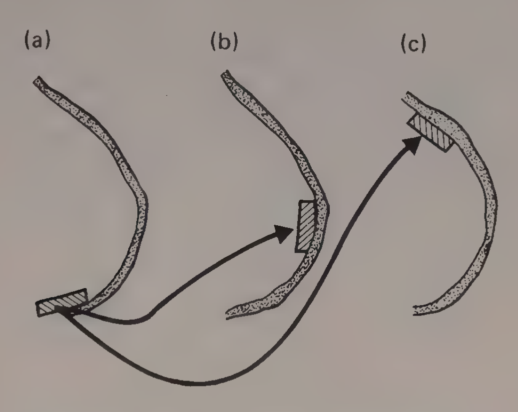


Abb. 3.11: Transplantation der Hinteren Nekrotischen Zone (HNZ). a) Die normale Lage der HNZ. b) Transplantation an die Spitze der Knospe. c) Transplantation an den vorderen Rand der Knospe (nach Saunders und Gasseling, 106).

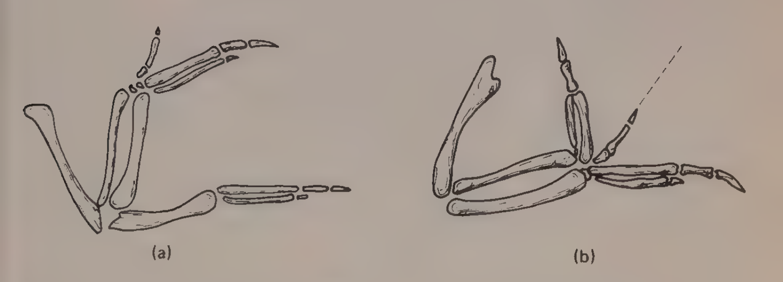


Abb. 3.12: Ergebnisse der in Abb. 3.11 skizzierten Versuche. a) Transplantation der HNZ in die Apikalregion der Knospe führt zu einer Verdoppelung, aber nicht zu einer spiegelbildlichen Anordnung der distalen Strukturen. b) Transplantation der HNZ an den vorderen Rand. Die gestrichelte Linie gibt die Symmetrieebene wieder. Man beachte die auffallende Ähnlichkeit zwischen diesem Ergebnis und dem nach Rotation der Knospe um 180° (Abb. 3.10) (nach Saunders und Gasseling, 106).

Allerdings ist die Rolle der HNZ bei der normalen Entwicklung nicht geklärt. Denn wenn man sie von einer jungen Gliedmaßenknospe entfernt, wird trotzdem ein normaler Flügel gebildet (106).

Wir wollen jede Interpretation der eben gebrachten Daten vermeiden, die sich auf das Muster der Axialstrukturen in der Gliedmaßenknospe bezieht (der Leser sei auf die Übersicht von Saunders und Gasseling (106) hingewiesen), und nun zu einer anderen Funktion des Mesenchyms bei der Gliedmaßenentwicklung übergehen. Es ließ sich beweisen, daß das Mesoderm voll und ganz für die Determinierung der Spezifität der Gliedmaßen verantwortlich ist. Sengel (111) testete alle möglichen Kombinationen zwischen Ektoderm und Mesoderm von Ente und Huhn. Seine Ergebnisse zeigten, daß in jedem Fall die Herkunft des Mesoderms ausschlaggebend dafür war, welcher Typ von Gliedmaßen ausgebildet wurde. Wenn z. B. Mesoderm des Entenbeins in Ektoderm des Hühnerflügels eingeschlossen wurde, so entstand ein Bein mit Schwimmfuß. Wurde Mesoderm des Hühnerflügels mit Ektoderm des Entenbeins kombiniert, so wurde ein Flügel mit Hühnerfedern gebildet. Diese Ergebnisse waren um so überraschender, als Strukturen wie Fußschuppen und Federn ausschließlich ektodermaler Herkunft sind. Trotzdem stand der spezielle Typ der gebildeten ektodermalen Strukturen in voller Übereinstimmung mit der Herkunft des Mesenchyms.

Bei der Besprechung der Gliedmaßenentwicklung wurde keiner der klassischen Faktoren wie Axialgradienten und apikale Dominanz erwähnt, weil sich die experimentellen Daten im allgemeinen kaum in dieser Hinsicht interpretieren lassen. Zwar findet sich eine oberflächliche Ähnlichkeit zwischen der Verdoppelung der distalen Strukturen nach Aufpfropfen eines zweiten Apikalkammes auf die Gliedmaßenknospe und der Bildung einer sekundären Achse bei *Hydra* ebenfalls nach Aufpropfen eines Hypostoms. Aber es dürfte kaum weiterführen, wenn man die Gliedmaßenentwicklung unter solchen Aspekten betrachtet. Einwandfrei gibt es hier jedoch entscheidende Interaktionen zwischen Mesoderm und Ektoderm. Auch bestimmte spezialisierte Zonen, der Apikalkamm und die HNZ, dürften für das axiale Muster der Gliedmaßenstrukturen von Wichtigkeit sein, auch wenn es gegenwärtig noch unbekannt ist, auf welche Weise sie eingeschaltet sind.

3.4. Regeneration von Gliedmaßen: Ähnlichkeiten zwischen Entwicklung und Regeneration?

Wir haben uns nun mit der Regeneration von Gliedmaßen bei erwachsenen Amphibien zu befassen, den evolutionsmäßig am höchsten stehenden Wirbeltieren, bei denen noch eine vollständige Regeneration von Gliedmaßen möglich ist. Dabei handelt es

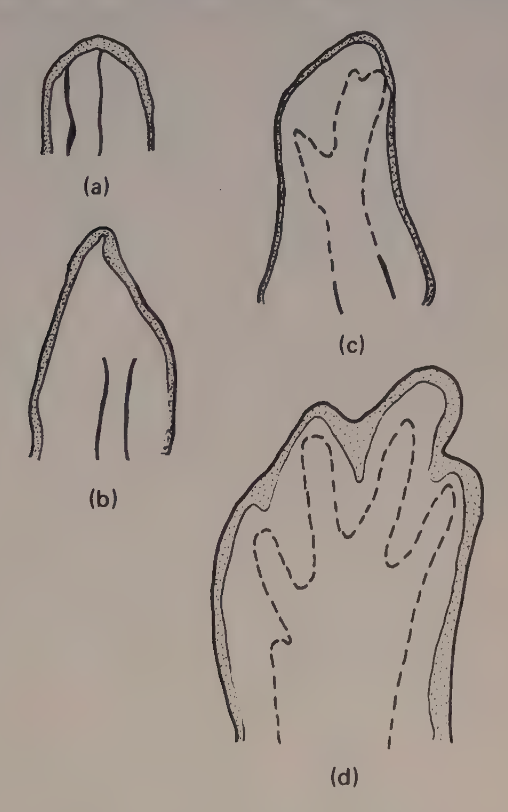


Abb. 3.13: Stadien in der Regeneration des Salamanderbeins. a) 3 Tage nach der Amputation. Ektoderm hat die Wundfläche überzogen. b) Kegelförmiges Blastem. Man beachte die Verdickung des apikalen Ektoderms. c) Palettenstadium. Knorpelige Handstrukturen (gestrichelte Linien) beginnen sich auszubilden. d) Fünf-Finger-Stadium. Die knorpelige Handstruktur ist deutlich ausgebildet (nach Photographien von Mettetal, 85).

sich um ein Beispiel für Epimorphose: die neuen Teile werden von einer Masse undifferenzierter Zellen regeneriert, dem Blastem, das sich an der Schnittfläche des Stumpfes ausbildet und während der Redifferenzierung Wachstum aufweist (63). Wenn man ein Glied – ganz gleich auf welcher Höhe – amputiert, so laufen nacheinander folgende Prozesse ab (Abb. 3.13): a) Wundheilung: Epidermiszellen schließen sich über der Wundfläche zusammen. b) Dedifferenzierung: unter dem Wundepithel treten Zellen auf, die keinerlei Merkmale differenzierter Zellen wie etwa Knorpel und Muskeln aufweisen – vermutlich weil sie sie verloren haben. c) Blastembildung: undifferenzierte Mesenchymzellen ordnen sich zu einer kegelförmigen Struktur an, die von einer nach der Spitze zu verdickten Epidermis überzogen wird. d) Redifferenzierung und Morphogenese: mit fortschreitendem Wachstum des Blastems erscheinen wieder Zellen mit den Merkmalen von Muskel- und Knorpelzellen. Sie stehen in den richtigen räumlichen Beziehungen zueinander und auch zu den entsprechenden Strukturen des Stumpfes.

Das zentrale Problem muß nun sein, wie die aus dem Blastem entstandenen Gewebe so mit denjenigen im Stumpf in Übereinstimmung gebracht werden können, daß die neu entstandenen Teile exakte Nachbildungen der verlustig gegangenen darstellen. Wir werden weiter unten erfahren, daß sich das junge isolierte Blastem autonom entwickeln kann. Aber bei der normalen Regeneration ist der Stumpf zweifellos von entscheidender Bedeutung. Sein Einfluß auf die Regeneration war Gegenstand zahlreicher experimenteller Untersuchungen, in denen einige wichtige Faktoren ermittelt werden konnten. Diese Arbeiten werden in einem Übersichtsreferat von Goss (55) behandelt, dem viele der folgenden Aufgaben entnommen wurden und in dem die betreffende Originalliteratur aufgeführt wird.

Gliedmaßen ohne Nerven regenerieren nicht, es sei denn, sie hätten sich schon von Anfang an ohne die Ausbildung von Nerven entwickelt (sog. aneurogene Gliedmaßen). Aber das Vorhandensein von Nerven scheint keine spezifische Voraussetzung für die Regeneration von Gliedmaßen zu sein. Das soll bedeuten, daß der Gliedmaßenstumpf für eine normale Regeneration kein entsprechend spezifisches Muster an Gliedmaßennerven benötigt, sondern vielmehr nur eine Mindestzahl an Nerven – ein unspezifisches Mindestmaß an nervöser Versorgung also. Derzeit scheint es so, als könnten wir die Nerven als musterbildenden Faktor bei der Regeneration von Gliedmaßen übergehen.

Für Knochen scheint insoweit das Gleiche zuzutreffen, als die vollständige Entfernung der Knochen aus dem Stumpf eine normale Regeneration nicht ausschließt. Jedoch scheinen die Knochen eine wichtige Rolle bei der Organisation entlang der Längsachse und bei der Determinierung der Größenverhältnisse zu spielen. Wenn man z. B. distale Knochen (Speiche und Elle) im Stumpf durch proximale Knochen (Oberarmknochen) ersetzt, ist das gebildete Regenerat länger als erwartet, und wenn man umgekehrt proximale Knochen gegen distale vertauscht, kürzer als erwartet. Im Regenerat scheint die Entfernung in proximal-distaler Richtung vom Knochen am distalen Ende des Stumpfes aus gemessen zu werden. Wenn dann wie oben bei einer Amputation im Bereich des Vorderarms Speiche und Elle gegen den Oberarmknochen ausgetauscht werden, verläuft die Regeneration infolgedessen so, als hätte die Amputation im Bereich des Oberarmknochens stattgefunden. Ein Austausch von Oberarmknochen und Oberschenkelknochen beeinflußt die Größe des Regenerates nicht.

Die Notwendigkeit von Muskeln für die Regeneration läßt sich nur schwer testen. Immerhin sprechen einige Daten dafür, daß Muskeln die Spezifität der Gliedmaßenregeneration ebenso kontrollieren wie das Mesoderm in der Entwicklung der Gliedmaßen von Vögeln. Wenn man z. B. die Muskulatur im Beinstumpf eines Axolotls gegen den Schwanzmuskel austauscht, kann vom Beinstumpf aus eine schwanzähnliche Struktur regeneriert werden.

Die Haut scheint für die Regeneration von Gliedmaßen notwendig zu sein, obgleich sie ähnlich wie das Ektoderm bei den Gliedmaßen von Vögeln wiederum keine Kontrolle über die Spezifität auszuüben scheint. Gliedmaßen können auch von Stümpfen regeneriert werden, die mit Schwanzektoderm überzogen worden waren. Nur wenn man den Stumpf vor der Haut-Transplantation mit Strahlen behandelt hatte, konnte es auch zu schwanzähnlichen Regeneraten kommen.

Interessante Ergebnisse erhält man, wenn man zwei Gliedstümpfe mit ihren Spitzen zusammenfügt und dann Seite an Seite regenerieren läßt. Liegen die Stümpfe dabei einander parallel, so werden die distalen Strukturen doppelt ausgebildet. Mit zunehmendem Winkel zwischen den Längsachsen der Stümpfe wird die Ausbildung der Duplikate mehr und mehr reduziert, bis die zwei Stümpfe von einer bestimmten Winkelgröße an nur noch einen gemeinsamen Satz an distalen Strukturen ausbilden. Das läßt

vermuten, daß innerhalb jedes Stumpfes ein starker proximal-distal gerichteter Faktor wirksam wird, der an der Determination der Längsstrukturen teilnimmt. Er kann mit dem entsprechenden Faktor das anderen Stumpfes in Wechselwirkung treten, ihn aber auch ausschalten.

In einigen Fällen wird die Polarität in proximal-distaler Richtung offensichtlich unter Bezugnahme auf den restlichen Körper determiniert. Denn wenn man ein Glied umgekehrt, d. h. aber auch mit umgekehrter proximal-distaler Polarität auf den Rumpf pfropft, entwickelt sich eine Gliedmaße mit auf den Rumpf bezogen normaler Polarität.

Wenn wir uns jetzt dem Blastem zuwenden, so sei zunächst gesagt, daß man zur Zeit von Goss' Übersicht (55) annahm, es verfüge über wenig oder keine autonome Gestaltungsfähigkeit. Neuere Arbeiten von Stocum (123, 124) und de Both (38) haben aber ganz im Gegenteil bewiesen, daß das isolierte Blastem die Fähigkeit besitzt, sich zu differenzieren und Beinstrukturen von normalem Muster auszubilden. Stocum (123) zeigte, daß sehr junge Blasteme von *Ambystoma*, die vor dem ersten Anzeichen einer Differenzierung isoliert und in Gewebekultur genommen worden waren, Muskeln und Knorpeln ausbilden konnten. Wenn ein Teil des Stumpfes zusammen mit dem Blastem kultiviert wurde, war die Differenzierung weniger vollkommen als wenn das Blastem für sich allein gehalten wurde. Die Differenzierung

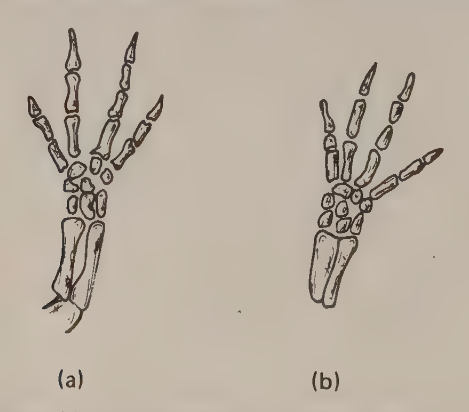


Abb. 3.14: Entwicklung kegelförmiger Blasteme nach ihrer Transplantation auf die Rückenflosse von Ambystoma. a) Normales Vorderbein bis zur Schnittfläche. b) 25 Tage altes Regenerat aus einem vom Oberarm transplantierten Blastem (nach Photographien von Stocum, 124).

in Gewebekultur erfolgte ohne Musterbildung. Wenn man aber gleich junge Blasteme in die Rückenflosse transplantierte, kam es zu einer Differenzierung unter Musterbildung (Abb. 3.14), wenngleich auch des öfteren Skelettelemente verlorengehen oder miteinander verschmelzen konnten (124). Eine Transplantation von Blastem und Stumpf führte zu einer normalen Regeneration. Die verwendeten Blasteme hatte man über eine Amputation durch den unteren Oberarm erhalten. Insofern mag es erwähnenswert sein, daß die distale Hälfte junger Blasteme nach der Transplantation Handstrukturen ausbildete. Die proximale Hälfte junger Blasteme wurde entweder absorbiert oder regenerierte ebenfalls Handstrukturen, wogegen etwas ältere proximale Blastemhälften Unterarmstrukturen ausdifferenzierten.

De Both (38) transplantierte junge Blasteme vom Oberarm in die Flanken oder Augenhöhlen. Einzelne transplantierte Blasteme bildeten Vorderarm- und Handstrukturen; aber wenn mehrere gleichartige Blasteme miteinander verschmolzen wurden, entstanden auch Oberarmstrukturen. Das Gleiche galt für ältere, sog. paddelförmige Blasteme, in denen die Redifferenzierung der Skelettstrukturen schon begonnen hatte. Ein Blastem für sich allein lieferte Handstrukturen, einige miteinander kombinierte Blasteme ergaben zusätzlich noch Vorderarmstrukturen.

Diese Ergebnisse lassen einige wichtige Gesichtspunkte erkennen. Erstens ist das Blastem zu einer normalen, unter Musterbildung erfolgenden Differenzierung befähigt. Zweitens ist das Blastem ganz offensichtlich ebensowenig wie die junge Gliedmaßenknospe ein Mosaiksystem, denn gleichartige, miteinander verschmolzene Blasteme können gemeinsam unter Bildung von proximalen Strukturen aufregulieren. Drittens scheint im Gegensatz zur Gliedmaßenknospe die Tendenz zur Ausbildung distaler Strukturen zuerst aufzutreten, da junge Oberarmblasteme Handstrukturen ausdifferenzierten. Jedoch ist der Stumpf trotz der autonomen Fähigkeiten des Blastems in der normalen Regeneration offensichtlich von Bedeutung, da das am Entstehungsort belassene Blastem ausschließlich die Strukturen ausbildet, die entfernt worden waren. Schließlich besteht eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß das apikale Ektoderm des Blastems mit dem Apikalkamm der Gliedmaßenknospen einige Eigenschaften gemeinsam hat. Zum Mißvergnügen des Experimentators regeneriert das Ektoderm des Blastems nach Entfernung außerordentlich schnell. Aber nach der Transplantation einer Ektodermkappe von der Spitze eines Blastems an die Basis eines anderen Bla-

stems war es immerhin möglich, die Verdoppelung einiger distaler Strukturen zu induzieren (131).

Wie das Verhalten der Gliedmaßenknospe scheint sich auch die Regeneration von Gliedmaßen kaum für ein Theoretisieren auf der Basis der klassischen Konzepte zu eignen. Der Befund, daß die Determination distaler Strukturen im Blastem zuerst stattzufinden scheint, läßt zwar Gemeinsamkeiten mit dem Konzept der apikalen Dominanz und mit der Hypostombildung bei *Hydra* erkennen. Daraus folgt aber nicht zwingend, daß es sich dabei auch um eine erfolgversprechende Art und Weise in der theoretischen Behandlung des Problems handelt.

3.5. Die Cuticula der Insekten: Untersuchungen zur Polarität

Als experimentelles System hat die Cuticula der Insekten den Vorteil, daß die Orientierung äußerlich erkennbarer Strukturen die Polarität der unter ihnen liegenden, einschichtig angeordneten Epidermiszellen anzeigt. Bei *Rhodnius*, einer Hemiptere, verlaufen schmale Cuticularleisten quer durch die Körpersegmente – und zwar im rechten Winkel zur Polaritätsachse der Epidermiszellen. Bei *Oncopeltus*, einer anderen Wanze, zeigen Haare parallel zur Polaritätsachse nach hinten. In den letzten 15 Jahren von verschiedenen Wissenschaftlern durchgeführte Experimente führten zur Aufstellung von Hypothesen hinsichtlich der Natur des Polaritätssystems der Cuticula (77). In der Regel handelte es sich bei den genannten Experimenten um die Transplantation von Stücken der larvalen Cuticula. Nach der letzten Häutung wurde dann der Effekt dieser Transplantation auf die Musterbildung beim erwachsenen Tier beobachtet.

Die experimentelle Grundlage dafür, einen Gradienten in jedem einzelnen Segment anzunehmen, wurde von Locke (80) gelegt. Aus der Cuticula von *Rhodnius* wurden rechteckige Stücke herausgeschnitten und entweder nach Rotation um 90° bzw. 180° oder auch auf anderer Höhe der Segmente wieder eingesetzt. Z. B. wurden Stücke vom Vorderende eines Segmentes an dessen Hinterende transplantiert. Dann kam es zu ganz charakteristischen Veränderungen im Muster der Cuticularleisten (Abb. 3.15). Nahm man Stücke heraus und versetzte sie auf gleicher Höhe des betreffenden Segmentes etwas nach der Seite oder transplantierte man sie auf die gleiche Höhe eines anderen Segmentes, so blieb das Muster der Cuticularleisten unverändert.

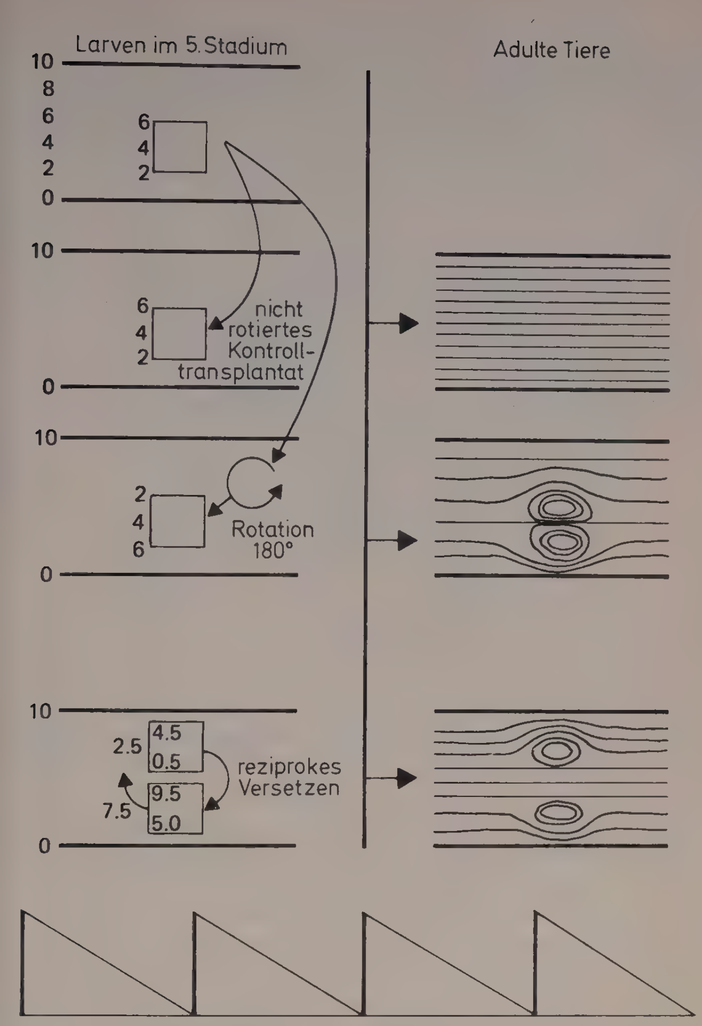


Abb. 3.15: Transplantationen von Cuticula bei *Rhodnius*. Links die an Larven im 5. Stadium durchgeführten Experimente, rechts das dann resultierende Muster der Cuticularleisten bei erwachsenen Tieren. Die Zahlen geben die Höhe des hypothetischen Gradienten im Wirtssegment und in den Transplantaten an. Unten die Modellvorstellung von serienweise wiederholten segmentalen Gradienten, wobei die dicken Linien die Grenzflächen zwischen den Segmenten markieren (nach Locke, 79; aus Lawrence, 77).

Anscheinend verläuft der Gradient von vorne nach hinten und wird in jedem einzelnen Segment wiederholt.

Die Körpersegmente der Insekten sind durch die Intersegmentalmembran voneinander getrennt, die die Gradientensysteme benachbarter Segmente begrenzt. Lawrence (77) beobachtete an

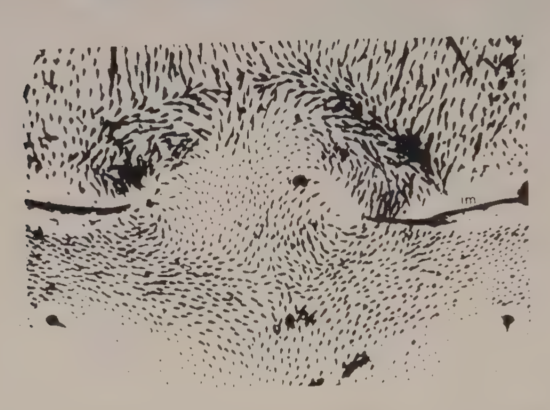


Abb. 3.16: Das Haarmuster um eine Störstelle in einer Interesegmentalmembran (im) bei *Oncopeltus* (gezeichnet nach Lawrence, 77).

Oncopeltus Veränderungen im Muster der Cuticularhaare bei Insekten, die Lücken in den Intersegmentalmembranen aufwiesen (Abb. 3.16). Die Veränderungen im Muster ließen Rückschlüsse auf bestimmte Eigenschaften des Gradientensystems zu. Der Gradient in einem Segment ließ sich mit einem Gradienten aus Sand vergleichen. Im Sandmodell wird eine Intersegmentalmembran durch je zwei Glasplatten repräsentiert (Abb. 3.17). Zwei Sandgradienten wurden auf beiden Seiten solcher Glasplatten aufgebaut – und zwar derart, daß das obere Ende des ersten Gradienten auf der einen Seite und das untere Ende des zweiten Gradienten auf der anderen Seite der beiden Glasplatten lag. Wenn man nun die Glasplatten auseinander zog, floß Sand vom oberen Ende des ersten Gradienten durch die Lücke und bildete einen neuen, stabilen Gradienten (stabil deswegen, weil sich ein Gleichgewicht zwischen der Schwerkraft und der Reibung zwischen den Sandkörnern einstellte). Dieser neue Gradient glich dem Cuticulargradienten, den man auf Grund der Orientierung der Haare um eine Lücke in der Intersegmentalmembran annehmen konnte, ganz außerordentlich. Man stellte deshalb die Hy-

pothese auf, der segmentale Gradient würde von einer diffusiblen Substanz aufgebaut, deren Konzentration innerhalb des Segmentes von vorne nach hinten abnimmt. Tritt eine Lücke in der Intersegmentalmembran auf, so wird der Aufbau eines neuen Konzentrationsgradienten dadurch ermöglicht, daß die Substanz nach

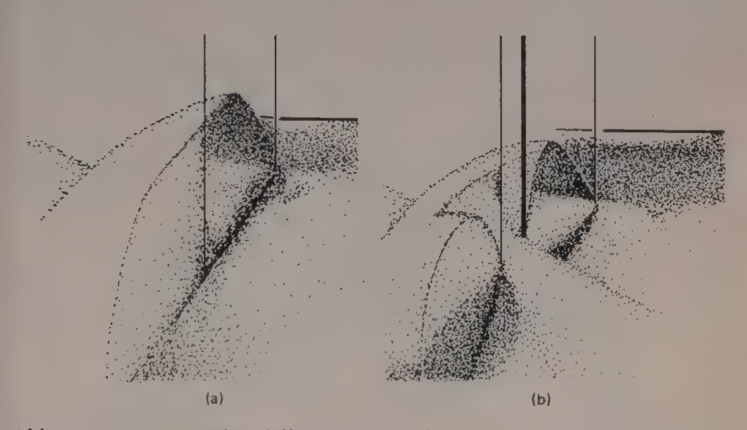


Abb. 3.17: Das Sandmodell. a) Zwei Glasplatten trennen zwei Sandgradienten. b) Nach Auseinanderziehen der beiden Glasplatten fließt der Sand hindurch. Die Umrisse des neuen Sandgradienten gleichen demjenigen Gradientensystem, das man auf Grund der Orientierung der Haare in Abb. 3.16 vermuten kann (gezeichnet nach Lawrence, 77).

vorne durch die Lücke diffundiert. Nun muß der neue Gradient aber noch stabil sein. Dazu muß angenommen werden, die Epidermiszellen könnten die Substanz gegen den Konzentrationsgradienten transportieren. Dann käme es zu einem Gleichgewicht zwischen der Diffusion entlang dem Gefälle des neuen Konzentrationsgradienten (das entspräche der Schwerkraft im Sandmodell) und der Pumptätigkeit der Zellen entgegen dem Gefälle des Gradienten (das entspräche der Reibung zwischen den Sandkörnern). Der Unterschied zwischen dem Sandmodell und dem Cuticulargradienten läge darin, daß jenes auf einem statischen, dieser auf einem dynamischen Gleichgewicht basiert.

Eine wichtige Frage ist, ob die Intersegmentalmembran beim Zustandekommen des Gradienten innerhalb eines Segmentes eine aktive Rolle spielt oder die Gradienten in benachbarten Segmenten lediglich voneinander trennt. Z. B. ließe es sich denken, daß

die vorderen und hinteren Flächen der Intersegmentalmembranen jeweils verschiedene Konzentrationen der diffusiblen Substanz aufrecht erhalten (126). Zumindest bei der Wachsmotte *Galleria* gibt es Hinweise darauf, daß die Intersegmentalmembran eine aktive Rolle spielt. Eine Verpflanzung von Stücken der Segmentgrenzfläche ins Innere eines Segmentes veränderte das Muster der Cuticularschuppen derart, daß man einen Einfluß auf die Orientierung der Schuppen sowohl von seiten des implantierten Stückes als auch von seiten der normalen Segmentgrenz-



Abb. 3.18: Ein Stück Cuticula von *Galleria*, das völlig von der hinteren Segmentgrenzfläche umgeben wird. Zentripetale Ausrichtung der Schuppen (gezeichnet nach Piepho, 95).

fläche annehmen mußte (83, 126). Bei *Galleria* sind die vorderen und hinteren Grenzflächen der Segmente jedoch voneinander verschieden. Man konnte zeigen, daß nicht beide für die Orientierung der Schuppen notwendig sind. Piepho (95) brachte es über eine entsprechende Pfropfung zuwege, daß ein Stück adulter Cuticula völlig von einer hinteren Segmentgrenzfläche umgeben war (Abb. 3.18). Die Schuppen im Transplantat orientierten sich radial, woraus man auf einen ebenfalls radialen Gradienten schließen konnte. Ein derartiger Gradient könnte beispielsweise dadurch entstehen, daß eine von der Segmentgrenzfläche gebildete diffusible Substanz entweder von den Epidermiszellen abgebaut wird oder spontan zerfällt.

Neuere Arbeiten befassen sich mit dem Muster der Cuticularleisten, das man erhält, wenn man ein Stück Cuticula von *Rhodnius* um 90° dreht (78). Unter bestimmten Annahmen hinsichtlich des hypothetischen Gradienten konnte man berechnen, wel-

ches Muster nach einer solchen Rotation gebildet werden sollte. Man nahm an, daß sich die Epidermiszellen, anstatt ihre Pumptätigkeit gegen das Gradientengefälle weiterzuführen, an ihre individuelle Konzentration an Gradientensubstanz «erinnern» und anstreben könnten, dieses Substanzniveau auch nach dem Eingriff aufrecht zu erhalten. Man fand dann eine bemerkenswerte Übereinstimmung zwischen beobachteten und erwarteten Ergebnissen.

Man sollte allerdings berücksichtigen, daß mit der Möglichkeit, über eine Modellvorstellung experimentelle Ergebnisse vorauszusagen, die Richtigkeit dieser Modellvorstellung noch keinesfalls zwingend bewiesen ist. Denn man hätte ja auch über einen anderen Mechanismus zum gleichen Ergebnis kommen können. Der Wert des im Falle der Insektencuticula praktizierten theoretischen Vorgehens – und von Modellvorstellungen ganz allgemein – liegt darin, daß man so zu Fragestellungen kommt, die experimentell angegangen werden können. Lassen sie sich beantworten, können sie zum Verständnis des betreffenden Systems beitragen.

3.6. Die Bildung von Nervenverbindungen: eine andere Art Problem?

Wegen seiner hohen Kompliziertheit mag das Nervensystem, was das Studium von Musterbildungen anbelangt, geradezu abstoßend erscheinen. Es muß allerdings nicht unbedingt so sein, daß sich der Mechanismus der Musterbildung hier als prinzipiell komplexer erweist als in anderen, auf den ersten Blick einfacheren Systemen. Allerdings könnte er sehr wohl im Detail feiner abgestimmt sein.

Die Fähigkeit von Organismen, auf äußere Reize mit koordinierten Bewegungen zu antworten, setzt unter anderem ein präzise abgestimmtes Muster von Nervenbahnen zwischen den peripheren Sinnesorganen und dem Zentralnervensystem (ZNS), innerhalb des ZNS und zwischen ZNS und der Körpermuskulatur voraus. Unser Problem ist nun, wie dieses Muster zustande kommt. Wir wollen uns hier jedoch nur mit einem Teilaspekt, der Ausbildung von neuromuskulären Verbindungen beschäftigen. Die prinzipielle Fragestellung läßt sich dadurch aufzeigen. Der genannte und weitere Aspekte wurden in einer Übersicht von Gaze (46) eingehend dargestellt. Sein Buch sei jedem empfohlen, den das folgende interessiert.

Bei den Wirbeltieren sind die Zellkörper der motorischen Neuronen in der ventral-lateralen Region des Rückenmarkes lokalisiert. Axone wachsen von den Zellkörpern aus und innervieren die Muskeln. Bei Amphibien und Fischen finden sich das Auswachsen der Neuronen und die Innervation von Muskeln sowohl bei der normalen Entwicklung als auch bei der Regeneration. Aber es gibt einen deutlichen Unterschied zwischen der Innervation während der Entwicklung und der Reinnervation z. B. eines transplantierten Gliedes. Während der Entwicklung wachsen Nervenfasern in die Gliedmaßenknospe ein, bevor die Muskelbildung stattgefunden hat (130). Während der Reinnervation dagegen nehmen die Nerven mit schon vorhandenen Muskeln Kontakte auf, wodurch die normale Koordinationsfähigkeit ebenfalls wiederhergestellt werden kann.

Ein wichtiges Beispiel für Reinnervation und Wiederherstellung der Funktion, die sog. «homologe Reaktion» stammt aus den frühen Arbeiten von Weiss (vgl. 46 für Literaturangaben). Wenn man ein Bein einer Schwanzlurchlarve neben das normale Bein eines Empfängertieres transplantierte, zeigte das Transplantat zuweilen eben die motorische Aktivität, die es in seiner nor-

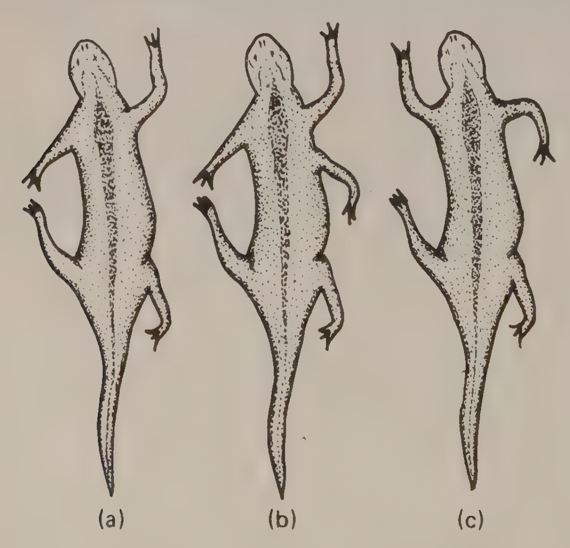


Abb. 3.19: Die homologe Reaktion. a) Normaler Molch. b) Linkes Vorderbein auf die rechte Seite hinter das normale Vorderbein transplantiert. c) Linkes und rechtes Vorderbein ausgetauscht.

malen Lage vor der Transplantation aufgewiesen hätte – ganz gleich, wie es nun orientiert war. Wenn man z. B. ein linkes Vorderbein auf die rechte Seite eines Empfängers unmittelbar hinter dessen normales rechtes Vorderbein verpflanzte, reagierte es gelegentlich auf Reize hin spiegelbildlich zur Reaktion des normalen Vorderbeines (Abb. 3.19). Wenn sich das Bein des Empfängertieres vorwärts bewegte, dann das transplantierte Bein rückwärts und so fort. Obwohl sich das transplantierte Bein nun auf der rechten Körperseite befand und obwohl es sich simultan mit dem normalen rechten Bein des Empfängertieres bewegte, waren seine Bewegungen nach wie vor auf die linke Körperseite, der es entstammte, abgestimmt. Diese homologe Reaktion fand sich auch dann, wenn man am gleichen Tier das rechte und linke Vorderbein gegeneinander austauschte. Sobald die Funktionsfähigkeit wiederhergestellt war, arbeitete jedes Bein mit einer normalen Folge von Muskelaktivitäten. Aber da diese Aktivitäten gerade umgekehrt orientiert waren, resultierte die Tendenz, das Tier rückwärts anstatt vorwärts zu bewegen – eine Tendenz, die auch realisiert werden konnte, wenn die normal arbeitenden Hinterbeine gelähmt worden waren.



Abb. 3.20: Transplantation eines Vorderbeinpaares zusammen mit der Brachialregion des Rückenmarkes in die Thoraxregion. Die Beine bewegen sich genauso wie normale Vorderbeine (gezeichnet nach Szekely, 127).

Um Gaze (46) zu zitieren: «Wenn ein Muskel in einem transplantierten Bein eine homologe Reaktion aufweist, scheint ihn das Zentralnervensystem sozusagen durch namentlichen Aufruf zur Aktion zu veranlassen. Kontrahiert sich der Biceps im normalen Bein, dann auch der Biceps im Transplantat. Kontrahiert sich der Triceps im normalen Bein, dann auch der Triceps im Transplantat. Das spricht dafür, daß das Zentralnervensystem ‹weiß›, was welcher Muskel im Transplantat ist.»

Es gibt mehrere Erklärungsmöglichkeiten dafür, wieso das ZNS ‹weiß›, was welcher Muskel ist. Neuere Daten scheinen aber vor allem für eine «selektive Reinnervierung» zu sprechen. Man nimmt hier an, die passenden Nerven wüchsen vom ZNS aus, fänden die richtigen Muskeln und stellten den Kontakt mit ihnen her. Wenn z. B. die für die Innervation des Biceps zuständigen Nerven in ein transplantiertes Bein hineinwachsen, dann finden sie dieser Hypothese zufolge den Biceps auch, ganz unabhängig davon, wie das Transplantat orientiert ist und ob sich der Biceps dementsprechend in seiner normalen Position befindet oder nicht.

Zwei neuere Veröffentlichungen (127, 119) enthalten Belegmaterial, das diese Hypothese stützt. Szekely zeigte, daß ein in die Thoraxregion einer Schwarzlurchlarve verpflanztes Vorderbeinpaar nicht von den motorischen Nerven innerviert wird. Wird nun aber zusätzlich zu den Beinen auch die Brachialregion des Rückenmarkes transplantiert, dann werden die Beine mit motorischer Nervatur versehen und funktionieren normal (Abb. 3.20). Von dieser Brachialregion des Rückenmarkes geht normalerweise die Innervation der Vorderbeine aus. Das Ergebnis des Experimentes läßt also vermuten, daß nur die jeweils passenden Nerven die Beinmuskulatur innervieren können: motorische Nerven der Thoraxregion etwa sind außerstande, die motorischen Nerven der Brachialregion zu ersetzen.

Sperry und Arora untersuchten die Innervation der Augenmuskulatur von Fischen durch den Occulomotorius. Sie fanden dreierlei: a) Wenn man den Occulomotorius durchschnitt, dann aber seine verschiedenen Äste bis zu den entsprechenden Muskeln hin regenerieren ließ, kam es zur Reinnervation und die normale Augenbewegung wurde rasch wieder ermöglicht. b) Wenn man nach dem Durchtrennen die Äste des Occulomotorius daran hinderte, Kontakt mit den passenden Muskeln aufzunehmen, fand zwar eine Reinnervation durch andere, nicht auf die Augenmuskeln abgestimmte Nerven statt. Aber die Augenbewegungen, die

dadurch ermöglicht wurden, waren nur schwach und abnormal. c) Wenn man zuerst eine Innervation durch nicht passende Nervenfasern und danach eine Regeneration der passenden Nerven zuließ, konkurrierten diese mit den nicht passenden Nerven derart, daß eine normale Innervation und Augenmuskelfunktion wiederhergestellt wurde.

Die Ergebnisse der beiden eben genannten Versuchsreihen sprechen für die Hypothese von der «selektiven Reinnervation» und gegen die alternative Hypothese von einer «myotypischen Respezifizierung». Diese zweite Hypothese nimmt an, die Muskeln würden zuerst ganz unspezifisch reinnerviert und erst danach würden dann die Nerven wieder spezifisch auf die von ihnen versorgten Muskeln abgestimmt, was vielleicht über ihre Verbindungen im ZNS vonstatten gehen könnte.

Gäbe es eine selektive Reinnervierung, was könnte dann ihr Mechanismus sein? Wie finden die Nervenfasern die richtigen Muskeln? Einige Experimente lassen vermuten, daß die neu einwachsenden Nerven nicht auf die schon vorhandenen Bahnen der ursprünglichen, aber bei der Transplantation degenerierten Nerven angewiesen sind. Z. B. konnten aneurogene Beine von *Ambystoma* (d. h. Beine, die sich ohne jede Nervenversorgung entwikkelt hatten) nach einer Transplantation in ihre normale Position in normalen Larven ein ebenfalls normales Reinnervationsmuster entwickeln (92). Weitere Experimente zeigten, daß eine normale Reinnervation dann unterbleibt, wenn man aneurogene Vorderbeine anstatt in ihre normale Position an diejenigen von Hinterbeinen transplantiert (93, 94).

Zusammenfassend muß herausgestellt werden, daß die oben erwähnten Daten nur einen verschwindend geringen Teil der über Musterbildung im Nervensystem veröffentlichten Daten repräsentieren und daß zudem der Kürze wegen grob simplifiziert wurde. Ein tieferes und auch ausgeglicheneres Verständnis der Problemstellung kann nur durch weiteres Literaturstudium erreicht werden, wozu Gazes Übersicht einen ausgezeichneten Ausgangspunkt bietet.

3.7. Primäre embryonale Induktion

Die primäre embryonale Induktion, d. i. die Induktion des Nervensystems in dem Ektodermbereich, der bei Wirbeltieren dorsal über dem bei der Gastrulation invaginierten Mesoderm liegt, ist der in Lehrbüchern meistbeschriebene Mechanismus einer Muster-

bildung. Deshalb seien hier keine Details dazu gebracht. Schon seit längerer Zeit nahm man an, die Induktion fände über einen Transfer spezifischer Induktorsubstanzen aus dem Mesoderm ins Ektoderm statt, die dann im Ektoderm die Neuralisation veranlaßten. Es gibt einiges Belegmaterial für die Existenz von zwei Induktorsubstanzen von Proteincharakter, den neuralisierenden Faktor und den mesodermalisierenden Faktor, von denen angenommen wird, sie könnten bei der Organisation des Musters des Nervensystems und anderer achsialer Strukturen zusammenwirken (vgl. 107, 132, 41).

Neuerdings wurde hier eine interessante andere Hypothese auf der Basis des Goodwin-Cohen-Modells (32, vgl. Kapitel 2) aufgestellt. Es wurde angenommen, im Amphibienembryo seien zwei Schrittmacherzentren vorhanden, von denen Wellen biochemischer Aktivität ausgingen. Vor der Gastrulation sollten sie am animalen Pol (Zentrum 1) und im Grauen Halbmond (Zentrum 2) lokalisiert sein. Während der Gastrulation soll sich Zentrum 1 auf den dorsalen Rand des Blastopors zu bewegen, während Zentrum 2 invaginiert und im dorsalen Mesoderm dann der Länge nach gedehnt wird. Cooke und Goodwin nehmen an, zwei derartige Zentren könnten ein zweidimensionales Gradnetz an Positionsinformation (Kapitel 2) im Mesodermmantel entstehen lassen, das dann seinerseits das Muster der Gewebedifferenzierung spezifizieren könnte.

4. Zellbewegungen während der Morphogenese und ihre Kontrolle

Die Forschung auf dem Gebiet der Morphogenese beschäftigt sich weitgehend damit, die koordinierten Bewegungen von Zellen und Zellpopulationen verstehen zu lernen. So handelt es sich z. B. bei den dramatischen morphogenetischen Veränderungen während der Gastrulation der Amphibien (vgl. Kapitel 1) um räumlich und zeitlich koordinierte Bewegungen großer Zellgruppen. Entoderm und Mesoderm beginnen mit ihrer Invagination am Ende des Blastulastadiums und haben sich dann am Ende der Gastrulation von der Oberfläche des Embryos in sein Inneres verlagert. Ihre Anordnung im Inneren legt die Basis für die Anordnung der Gewebe im voll entwickelten Organismus. Die korrekte räumliche Anordnung der Gewebe in der Gastrula ist für die nachfolgenden Entwicklungsstadien von ausschlaggebender Bedeutung.

Das Phänomen der morphogenetischen Bewegungen läßt zwei wichtige Fragen aufkommen, auf die etwas genauer eingegangen werden soll: 1. Wie kommt es zur Bewegung der Zellen? und 2. Über welchen Mechanismus sind diese Bewegungen koordiniert? Da die meisten Embryonen nicht transparent sind, waren nur in seltenen Fällen direkte Beobachtungen der Zellbewegungen in Embryonen selbst möglich. Infolgedessen wurden die genannten Fragen weitgehend unter artifiziellen Bedingungen, etwa in Gewebekulturen bearbeitet. Wir werden die mit den Mechanismen der Zellbewegung verbundenen Probleme hier zunächst unter allgemeinen Gesichtspunkten betrachten und dann im nächsten Kapitel zu speziellen Fällen der Morphogenese übergehen.

4.1. Der Mechanismus der Zellbewegung

Zwei Verallgemeinerungen sind hinsichtlich der Bewegung embryonaler Zellen möglich. Erstens fallen sie unter die Klasse der «amöboiden» Bewegungen. Das soll heißen, daß man an der Vorderseite sich vorwärts bewegender Zellen gewöhnlich eine Art Pseudopodienaktivität findet, wenn auch verschiedene Zelltypen jeweils spezielle Formen dieser Aktivität aufweisen (Ab-

schnitt 4.2). Zweitens dürfte es ziemlich klar sein, daß eine sich über ein Substrat bewegende Zelle Adhäsionskräften an dieses Substrat unterliegen muß, wobei sie an ihrem voranrückenden Ende neue adhäsive Bindungen legen, an ihrem Hinterende aber alte lösen muß. Wie nun die Pseudopodienaktivität und die Adhäsionseigenschaften im einzelnen dazu beitragen könnten, daß eine Bewegung über ein Substrat zustande kommt, ist umstritten. Hier kam es zur grundlegenden Kontroverse auf dem Gebiet der Zellbewegungen, nämlich der über die Frage, wie die treibende Kraft für die Bewegungen entsteht. Vor allem drei Hypothesen werden verfochten:

4.1.1. Die Zellmembran als Ort, an dem die treibende Kraft für die Zellbewegung entsteht

Verschiedene Wissenschaftler haben vorgeschlagen, die Kraft für die Zellbewegung könne über ein Turnover der Oberflächenmembran zustande kommen (14, 52, 116, 117). Die Hypothese geht dahin, daß am voranrückenden Ende der Zelle neue Oberflächenmembranen entstehen, während am Hinterende Oberflächen-

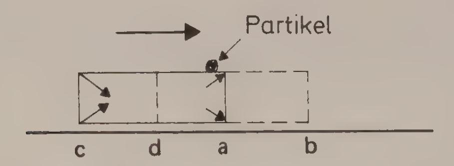


Abb. 4.1: Oberflächen-Turnover als Mechanismus der Zellbewegung. Neue Oberflächen werden an der Vorderseite der Zelle (a) gebildet, alte am Hinterende (c) resorbiert (kleine Pfeile). Wenn sich die Zelle um ihre halbe eigene Länge vorwärts bewegt hat (neues Vorderende b, neues Hinterende d), ist auch die Hälfte ihrer Oberfläche erneuert. Ein Partikel an der Zelloberfläche bleibt dabei auf das Substrat bezogen stationär.

membranen resorbiert werden (Abb. 4.1). Das schließt ein, daß die seitlichen Oberflächen während der Vorwärtsbewegung der Zelle auf das Substrat bezogen stationär bleiben und daß die gesamte Oberfläche sich jedesmal dann völlig erneuert hat, wenn sich die Zelle um ihre eigene Länge voran bewegt hat. Die Hypothese basiert auf der Beobachtung von an den Zelloberflächen

befindlichen Partikeln, die in einigen Fällen während der Vorwärtsbewegung der Zelle auf das Substrat bezogen stationär blieben. Man glaubte annehmen zu dürfen, das Verhalten dieser Partikel spiegelte das Verhalten der Zelloberfläche wider. Die diesbezüglichen Untersuchungen von Bell und Goldacre wurden an freilebenden Amöben und diejenigen von Shaffer an zellulären Schleimpilzen durchgeführt. Aber die Hypothese, daß während der Bildung von Pseudopodien neue Oberflächenbereiche entstehen könnten, wurde neuerdings auch für Fibroblasten aus dem embryonalen Hühnerherzen und aus Mäusemuskeln aufgestellt, wiederum auf Grund von Beobachtungen von oberflächengebundenen Partikeln (8).

Wahrscheinlich gestattet das Verhalten der Partikel jedoch keinen zuverlässigen Rückschluß auf das Verhalten der Zelloberfläche – und zwar aus zwei Gründen. Erstens beobachteten andere Autoren, daß sich solche Partikel sehr wohl mit der Zelle voran bewegten anstatt stationär zu bleiben (36). Zweitens führte eine verläßlichere Kennzeichnung, nämlich die Markierung mit fluoreszierenden Antikörpern, zu dem Schluß, daß sich die Oberfläche eben doch mit der Zelle voran bewegt und daß sie nicht jedesmal erneuert ist, wenn sich die Zelle um ihre eigene Länge vorwärts bewegt hat. Es ließ sich das sowohl für Amöben als auch für Schleimpilze demonstrieren (152, 45).

Eine andere Hypothese nimmt an, die Membran könne aktive Gestaltsänderungen durchführen (67). Für diese Vorstellung gibt es kein direktes Beweismaterial, doch wurde eine entsprechende Annahme hinsichtlich eines möglichen Kontrollmechanismus für die Zelladhäsion entwickelt (72, 73). Man hat weiterhin angenoommen, beim Gestaltswechsel der Membran könne ein Actomyosin-ähnliches Protein eine Rolle spielen (75).

4.1.2. Haptotaxis – durch Grenzflächenkräfte vorangetriebene Bewegung

Der Gedanke, die Zellbewegung könne über Grenzflächenkräfte zustande kommen, ist zwar alt, wurde aber in neuerer Zeit von Carter (23) auf besonders überzeugende Weise wieder zur Diskussion gestellt. Die Annahme ist, die eigentliche Bewegung einer Zelle über ein Substrat stelle ein passives Phänomen dar, wenn es auch indirekt zu einem Energieverbrauch kommen könne. Die

Triebkraft sollen Adhäsionskräfte zwischen Zelle und Substrat sein.

Man versteht den Gedankengang vielleicht am besten, wenn man eine Analogie zum Verhalten eines Wassertropfens auf verschiedenen Oberflächen herstellt. Setzt man einen Wassertropfen auf sauberes Glas, so breitet er sich über dessen Oberfläche aus; setzt man ihn dagegen auf eine nicht haftende Oberfläche wie etwa Teflon, so bleibt er ungefähr kugelförmig. Der Tropfen breitet sich auf der Glasfläche aus, weil die Adhäsion der ihn aufbauenden Moleküle zur Oberfläche des Glases stärker ist als ihre Cohäsion untereinander. An Teflon dagegen haften die Wassermoleküle nicht besonders gut, so daß ihre wechselseitige Cohäsion den Tropfen in Kugelform hält (die Cohäsion zwischen Molekülen ist für die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten verantwortlich). Die Adhäsion zwischen den Wassermolekülen und der Oberfläche des Glases ist die treibende Kraft für das Ausbreiten – oder die Bewegung – des Tropfens.

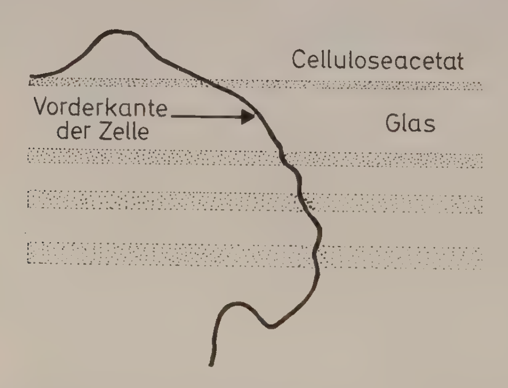


Abb. 4.2: Die Randzone einer Zelle auf einer aus alternierenden Glas- und Celluloseacetatstreifen zusammengesetzten Oberfläche. Die Randzone bewegt sich im Bereich des Glases, aber nicht in dem des Celluloseacetates voran, wodurch ein in Aufsicht gekerbter Umriß entsteht (gezeichnet aus Carter, 23).

Carter stellte fest, daß Zellen gegenüber einem Film aus Celluloseacetat keine Adhäsion aufwiesen, wohl aber zu einer Palladiumschicht, mit der der Film überzogen worden war. Wenn man das Palladium auf die Celluloseacetatoberfläche in Form eines

Gradienten aufbrachte, bewegen sich die Zellen den Palladium- und damit auch Adhäsionsgradienten hinauf. Weiterhin, Zellen, die sich über eine Glasoberfläche (zu der sie Adhäsion aufweisen) hinweg bewegten, stellten ihre Bewegungen ein, wenn sie die Grenze zwischen dem Glas und einem Celluloseacetatfilm erreichten. Wenn man eine Zelle auf eine Oberfläche brachte, die aus alternierenden Glas- und Celluloseacetatstreifen bestand, dann bewegte sich ihre Randzone im Bereich der Glasstreifen, aber nicht in dem der Celluloseacetatstreifen voran. Dadurch kam ein von oben gesehen gekerbter Umriß zustande (Abb. 4.2). Auf diesen Daten basierte Carters Schluß, die Zellbewegung käme über die Adhäsionskräfte zwischen Zelle und Substrat zustande.

Es ist schwierig, diese Hypothese über Beobachtungen wie die eben beschriebenen experimentell zu testen. Denn man könnte erwarten, daß sich eine Zelle auf jeden Fall einen Adhäsionsgradienten aufwärts bewegt – ganz gleichgültig, wie die bewegende Kraft beschaffen sein mag.

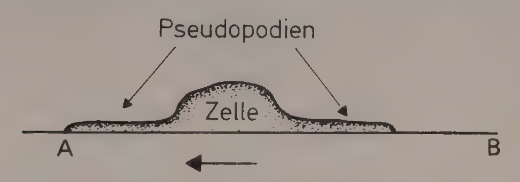


Abb. 4.3: Zelle mit zwei ausgestreckten Pseudopodien. Die Adhäsion des einen Pseudopodiums bei A ist stärker als die des anderen bei B. Eine Kontraktion der Pseudopodien würde zu einer Bewegung in Pfeilrichtung führen.

Stellen wir uns eine auf einem bestimmten Substrat befindliche Zelle vor, die zwei Pseudopodien in entgegengesetzten Richtungen ausstreckt (Abb. 4.3). Nehmen wir an, Pseudopodium A wiese eine stärkere Adhäsion zum Substrat auf als Pseudopodium B. Machen wir nun noch die weitere Annahme, die Pseudopodien seien kontraktil (vgl. Abschnitt 4.3). Eine solche Zelle würde sich in Richtung A bewegen, und zwar deshalb, weil bei Pseudopodienkontraktion die – ja schwächere – Adhäsion bei B eher gelöst werden müßte als die bei A. In einem derartigen Fall würde die Zelle über die Adhäsionskräfte zwar *geleitet*, aber nicht von ihnen *angetrieben*. Für den bloßen Beobachter wäre es jedoch unmöglich, irgendeinen gültigen Schluß hinsichtlich des wirksamen Mechanismus zu ziehen.

4.1.3. *Entstehung der treibenden Kraft für die Zellbewegung über Strukturelemente des Cytoplasmas*

Es gibt gute Gründe für die Annahme, die treibende Kraft für die Zellbewegung entstünde zumindest teilweise im Cytoplasma. Es konnte gezeigt werden, daß aus Amöben isoliertes Cytoplasma kontrahierbar ist und daß es Filamente mit einem Durchmesser von 4 bis 12 nm (1 = 1 Nanometer = 10^{-9} m = 10 Å) enthält, die die strukturelle Basis für die Kontrahierbarkeit darstellen könnten (88).

In embryonalen Zellen und in Zellen in Kultur wurden zwei Typen cytoplasmatischer Filamente gefunden, die bei der Zellbewegung vielleicht eine spezifische Rolle spielen könnten. Bei dem ersten Typ handelt es sich um die *Mikrotubuli*. In elektronenmikroskopischen Längsschnitten erscheinen sie als zwei parallele dunkle Linien mit einer helleren Linie dazwischen, in Querschnitten als dunkle Kreise mit hellen Zentren. Sie messen etwas über 20 nm im Durchmesser. Wo Zellen sich strecken, finden sich die Mikrotubuli häufig in Richtung der Streckung aufgereiht, so z. B. in BHK-Zellen in Gewebekultur (53). Der Aufbau der Mikrotubuli kann durch verschiedene Substanzen gestört werden,

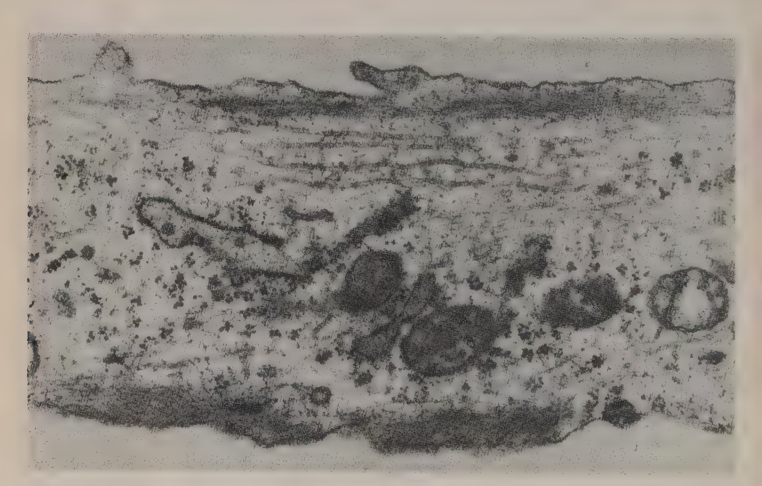


Abb. 4.4: Längsschnitt durch einen gestreckten BHK-21-Fibroblasten. Mikrofilamente befinden sich unter der oberen und unteren Oberfläche, Mikrotubuli im Inneren (Photo freundlicherweise von Dr. Robert D. Goldman zur Verfügung gestellt. Aus Goldman, 53).

z. B. durch Colchizin. Mit Colchizin behandelte Zellen können sich nicht in die Länge strecken: z. B. weisen Colchizin-behandelte BHK-Zellen das rundliche Aussehen von Epithelzellen und nicht die langgestreckte, fibroblastenähnliche Gestalt unbehandelter BHK-Zellen auf (53). Man könnte annehmen, die Mikrotubuli seien an der Längstreckung der Zellen und an der Ausdehnung der Pseudopodien und/oder am Aufrechterhalten einer länglichen Struktur beteiligt. In zahlreichen Fällen scheinen die Mikrotubuli bei der Streckung der Zellen während der Morphogenese eine Rolle zu spielen (vgl. nächstes Kapitel).

Bei den anderen cytoplasmatischen Filamenten handelt es sich um die *Mikrofilamente*. Unter dem Elektronenmikroskop erscheinen sie als kompakte schwarze Längsstrukturen von ungefähr 5 nm Durchmesser. Man nimmt an, Mikrofilamente seien an der Pseudopodienkontraktion (133) und an anderen zellulären Kontraktionsphänomenen beteiligt (vgl. nächstes Kapitel). Cytochalasin B, das von Carter entdeckt und für das ebenfalls von ihm eine Hemmwirkung auf die Zellbewegung festgestellt wurde (24), zerstört die Mikrofilamente (120). Eine aufregende Möglichkeit wäre, daß es sich bei Cytochalasin B um einen spezifischen Hemmstoff der Zellbewegung handeln könnte. Bluemink (15) ist jedoch der Meinung, seine primäre Wirksamkeit könne viel eher als bei den Mikrofilamenten im Bereich der Zelloberfläche und damit der Adhäsionseigenschaften der Zelle liegen. Mikrofilamente scheinen dem Actin der Muskeln ziemlich ähnlich zu sein (71). Davon ausgehend schätzt Wolpert (149), daß 10 bis 100 solcher Filamente recht gut die treibende Kraft hinter der Zellbewegung stellen könnten.

Obwohl zunehmend mehr Daten dafür sprechen, die Triebkraft der Bewegung im Zellinneren zu suchen, läßt sich dennoch der Anteil der Zellmembraneigenschaften und der Haptotaxis nur schwer abschätzen. Keines der beiden letztgenannten Phänomene kann als mögliche Tiebkraft der Bewegung ausgeschlossen werden. Vor allem scheint es sicher zu sein, daß Adhäsionskräfte beim Ausrichten der Zellbewegung von Bedeutung sind.

4.2. Typen pseudopodialer Aktivität

Zwei Typen pseudopodialer Aktivität, die sich sowohl bei bestimmten embryonalen als auch bei nicht embryonalen Zellen finden, wurden recht eingehend untersucht.

Primäre und sekundäre Mesenchymzellen von Seeigel-Embryonen (vgl. nächstes Kapitel) bilden lange, feine Pseudopodien, die

Filopodien genannt werden. Die Aktivität dieser Filopodien kann in Zeitrafferfilmen über die Gastrulation bei Seeigeln direkt beobachtet werden. Denn die Embryonen sind transparent, so daß man in das Blastocoel, den Ort dieser Aktivität, hineinsehen kann. Was sich dann abspielt ist, daß von den Mesenchymzellen Filopodien ausgestreckt werden. Sie heften sich an

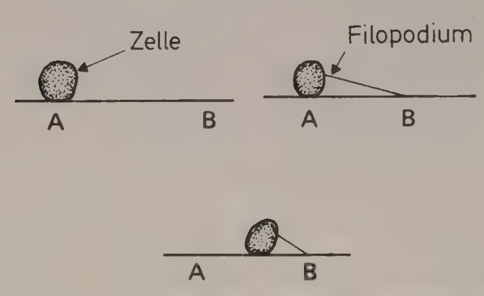


Abb. 4.5: Schema der Bewegung durch Filopodien. Ein Filopodium wird ausgestreckt und heftet sich bei B an das Substrat. In dem Maße, in dem sich das Filopodium verkürzt, bewegt sich die Zelle von A nach B (nach Gustafson und Wolpert, 60).

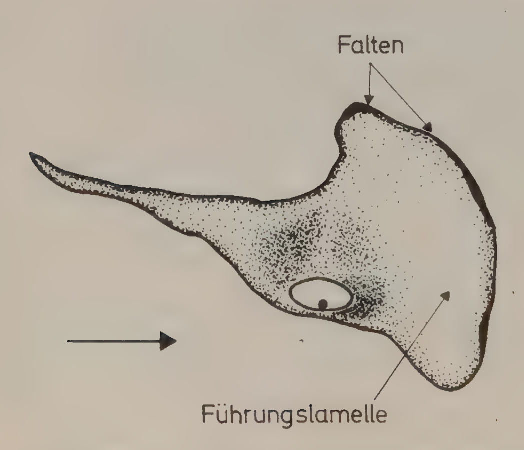


Abb. 4.6: Zeichnung eines Hühnerherzfibroblasten, der sich in Pfeilrichtung über das Substrat bewegt, mit dem im Text beschriebenen charakteristischen dreieckigen Aussehen.

die innere Oberfläche der Ektodermzellen, die das Blastocoel begrenzen. Dann verkürzen sich die Filopodien im gleichen Maß, in dem die Mesenchymzellen an die Haftpunkte herangezogen werden (Abb. 4.5). Diese Beobachtungen ließen die Vermutung aufkommen, die Kontraktion der Filopodien könne die Zellen voranbewegen (60, 61). Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Mesenchymzellen des Seeigels und Behandlungen der Gastrula mit Agentien, die Mikrotubuli angreifen, führten zu dem Schluß, die Mikrotubuli könnten beim Ausstrecken und die Mikrofilamente bei der Kontraktion der Filopodien eine Rolle spielen (133). Eine Verkürzung zarter Pseudopodien, die zu Zellbewegungen führte, wurde auch bei bestimmten freilebenden Amöben beobachtet (146).

Einen zweiten wichtigen Typ pseudopodialer Aktivität zeigen viele embryonale Zellen und Zellen in Gewebekultur. Er wurde am eingehendsten an embryonalen Hühnerherzfibroblasten untersucht. Bei der Bewegung über ein Substrat weisen diese Zellen einen charakteristischen dreieckigen Umriß auf, wobei die voranrückende Zellkante die Basis des Dreieckes bildet (Abb. 4.6). Unter dem Phasenkontrastmikroskop scheint die vordere Hälfte der Zelle frei von cytoplasmatischen Einschlüssen zu sein. Weil sie außerdem sehr dünn und flach ist, wurde diese bei der Bewegung führende Zone zutreffenderweise «Führungslamelle» genannt (70). Früher – und teilweise heute noch – wurde und wird der führende Zellteil auch «Faltungszone» genannt, weil er «Faltungsaktivität» aufwies. Das soll bedeuten, daß dunkle, dünne und unregelmäßige Linien, die «Falten» genannt wurden, an oder nahe an der führenden Zellkante erschienen. Diese Falten blieben im allgemeinen nur für weniger als eine Minute erhalten und bewegten sich während dieser Zeit – auf das Substrat bezogen – nach rückwärts. Sie können sich auch einmal unter Bezug auf die Führungslamelle nach rückwärts bewegen, aber in der Regel bleiben sie dicht an der vorderen Kante (7).

Eine ganze Anzahl von Gründen spricht dafür, daß die Führungslamelle und vielleicht auch die Falten bei der Zellbewegung eine Rolle spielen; nicht der unwichtigste davon ist, daß sie sich beide an der Vorderkante sich voran bewegender Zellen befinden (vgl. 1). Eine interessante und einleuchtende Hypothese zur Vorwärtsbewegung wurde von Ingram (70) auf Grund von Experimenten aufgestellt, in denen sich bewegende Fibroblasten von der Seite beobachtet worden waren. Der Leitgedanke ist, daß sich die Führungslamelle über eine kurze Strecke nach vorne aus-

dehnt, sich dann nach abwärts zu biegt und am Substrat festheftet und sich schließlich kontrahiert, wobei dann die Zelle nach vorne gezogen wird (Abb. 4.7 a). Wie ersichtlich, wäre eine ganze Reihe derartiger Aktivitätszyklen notwendig, um die Zelle einmal um ihre eigene Länge voranzubewegen. Im Prinzip ähnelt

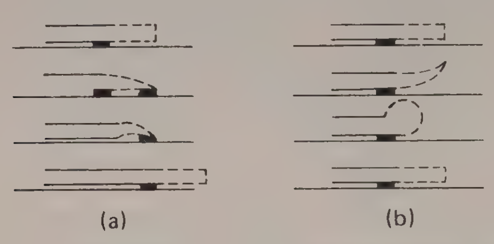


Abb. 4.7: Ingrams Hypothese zur Fibroblastenbewegung und Faltenbildung. a) Die Vorderkante dehnt sich aus, heftet sich an das Substrat und zieht sich zusammen, wobei die Zelle ein kurzes Stück voran gezogen wird. Der Zyklus wird dann wiederholt. b) Nach der Streckung heftet sich die Vorderkante nicht an das Substrat. Bei der anschließenden Kontraktion biegt sie sich dann nach oben, wodurch eine Falte entsteht (nach Ingram, 70).

die Hypothese den Vorstellungen über die Aktivität der Filopodien außerordentlich. Ingram vermutet weiterhin, Falten könnten dann entstehen, wenn sich die Vorderkante nicht am Substrat festheftet und dann eine Kontraktion mehr in Richtung auf die obere Fläche der Führungslamelle zu erfolgt (Abb. 4.7 b). Infolgedessen müßte sich die Vorderkante nach oben und rückwärts biegen. Von oben betrachtet ließe sich an der betreffenden Zelle dann eine «Falte» erkennen. Bei Bestätigung dieser Annahme wäre die Faltenbildung also kein direkt an der Zellbewegung beteiligter Prozeß, sondern vielmehr eine Fehlleistung des Bewegungsmechanismus auf Grund eines Ausbleibens der Adhäsion am Substrat.

Abercrombie, Heaysman und Pegrum (6, 7) untersuchten das Verhalten der Vorderkanten und Fibroblasten und ihre Faltungsaktivität im Detail, wobei sie sie von oben betrachteten. Sie fanden, daß sich ein gegebener Punkt an der Vorderkante über eine Distanz von ungefähr 5 μm wiederholt voran- und zurückbewegen konnte. Punkte, die an der Vorderkante nur 6 μm voneinander entfernt liegen, können sich dabei oft ganz unabhängig verhalten: wenn sich z. B. ein Punkt voran bewegt, kann sich ein

anderer 6 μm davon entfernt zurückbewegen. Weil mehr Zeit auf das Vorwärts- als auf das Rückwärtsbewegen entfällt, weist die Vorderkante insgesamt eine Vorwärtsbewegung auf. Abercrombie et al., nehmen an, daß die Vorderkante der Führungslamelle in keinem Stadium fest am Substrat angeheftet ist (6). Sie zeigten außerdem, daß die Falten manchmal *hinter* der Vorderkante entstehen können (7).

Dies sind wichtige Befunde, die nicht mit Ingrams Hypothese in Einklang stehen. Wir müssen also zu dem Schluß kommen, daß der Mechanismus der Fibroblastenbewegung ungeklärt bleibt.

4.3. Kontrollierende Faktoren bei der Zellbewegung

Eine Reihe von Faktoren konnte gefaßt werden, die die Bewegung und damit das Verhalten von Zellen zu kontrollieren oder zu beeinflussen scheinen. Einige der wichtigeren unter ihnen sollen nun genannt und diskutiert werden. Aber zuvor muß noch einmal herausgestellt werden, daß die Zellbewegungen während der Morphogenese sowohl räumlich als auch zeitlich koordiniert sind.

Verschiedene Hypothesen wurden zur räumlichen Koordinierung der morphogenetischen Bewegungen vorgeschlagen. Bei einigem Optimismus könnten wir annehmen, über diesen Aspekt des Problems wenigstens in etwa orientiert zu sein. Soviel ich weiß, ist jedoch praktisch nichts über die zeitliche Koordinierung bekannt. Eine Frage, die man hier stellen könnte, wäre z. B.: Woher «weiß» die Blastula der Amphibien, wann sie mit der Gastrulation beginnen soll? Die Gastrulation könnte eine ganz bestimmte Zeitspanne nach Beginn der Entwicklung oder auch dann einsetzen, wenn über die Furchungen eine Blastula mit einer festgelegten Zahl von Zellen entstanden ist (30). Aber damit stellen sich nur die weiteren Fragen, wie die Zeit gemessen oder die Zellenzahl festgestellt wird. Die Antworten auf diese Fragen müssen nicht unbedingt besonders kompliziert sein, aber ich kenne keinen Versuch, sie herauszufinden. Infolgedessen können sich alle hier gebrachten Beispiele nur auf die räumliche Koordinierung der Zellbewegung beziehen.

4.3.1. Kontakthemmung

Die Bezeichnung Kontakthemmung bezieht sich darauf, daß bei einer sich über ein Substrat bewegenden Zelle «die Tendenz be-

steht, die Bewegung in Richtung eines mit einer anderen Zelle erfolgten Kontaktes einzustellen» (5). Man kann diese Aussage an Hand der Beobachtungen verstehen, die Abercrombie und Ambrose (2) an sich bewegenden Fibroblasten machten. Sie stellten fest, daß nach Kontakt der Führungslamelle eines Fibroblasten mit der Oberfläche eines anderen Fibroblasten die Grenzfläche zwischen den beiden Zellen undeutlich wurde. In der Regel wurde die Faltungsaktivität der Führungslamelle innerhalb weniger Minuten eingestellt. Daraufhin bildete sich eine neue Führungslamelle an einem Teil der Zelle, der keinen Kontakt zur zweiten Zelle aufwies, und schließlich bewegte sich die erste Zelle in einer anderen Richtung fort.

Eine Konsequenz dieses Verhaltens ist, daß Fibroblasten dazu neigen, eine einschichtige Zell-Lage auszubilden, also nicht aufeinander zu klettern oder sich übereinander hinweg zu bewegen. In der Tat wurde man auf das Phänomen der Kontakthemmung auch zuerst an Hand von Untersuchungsergebnissen aufmerksam, die zeigten, daß Fibroblasten nur *eine* Zellschicht ausbilden (4). Wenn ein Fragment aus einem embryonalen Hühnerherzen auf ein geeignetes Substrat zur Gewebekultur ausgelegt wird, wandern von seinem Rand Fibroblasten in Form einer sich mit gleichmäßiger Geschwindigkeit nach allen Richtungen ausdehnenden Schicht aus. Wurden zwei derartige Explantate in kurzer Distanz nebeneinander ausgelegt, so kamen die sich ausdehnenden Fibroblastenschichten in einer Zwischenregion miteinander in Kontakt. Danach wurde in diesem Kontaktbereich die Geschwindigkeit der Zellbewegung reduziert, verglichen mit derjenigen an Außenrändern der sich ausdehnenden Schicht ohne einen derartigen Kontakt. Außerdem war nun die Zellbewegung in der Zwischenregion zufallsgemäß ausgerichtet und nicht mehr radiär nach außen wie zuvor. Danach zu urteilen, daß ihre Kerne sich nicht überlappten, türmten sich die Zellen in der Grenzregion nicht übereinander auf, sondern behielten ihre einschichtige Anordnung bei.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß sich die Bewegungsgeschwindigkeit einzelner Fibroblasten zur Zahl anderer Zellen, mit denen sie in Kontakt stehen (Kontaktzahl), umgekehrt proportional verhält (3). Die durchschnittliche Geschwindigkeit von Zellen ohne Kontakt betrug rund 75 μm/h, wogegen sich Zellen mit höherer Kontaktzahl (5 oder 6) nur etwa halb so schnell fortbewegten. Nach neueren Untersuchungen findet sich bei 3T3-Mäusefibroblasten eine ähnliche umgekehrte Relation zwi-

schen Geschwindigkeit und Kontaktzahl. Außerdem stellte es sich heraus, daß sich bei ihnen die Zellgeschwindigkeit zu dem Prozentsatz des Zellumfanges, der in Kontakt mit anderen Zellen steht, umgekehrt proportional verhält (84). Zellen, die über 75–100 % ihres Umfanges mit anderen Zellen in Kontakt standen, bewegten sich nur halb so schnell wie Zellen ohne Kontakt.

Zwei wichtige Fragen stellen sich hinsichtlich der Kontakthemmung: 1. Welcher Mechanismus steht hinter ihr? und 2. Findet sie nur bei Zellen auf einem Kultursubstrat statt oder auch bei Zellen in einem festen Gewebeverband wie z. B. in Embryonen?

Was den Mechanismus anbelangt, gibt es im wesentlichen zwei Hypothesen (1). Die erste nimmt an, daß die Hemmung der Zellbewegung in Richtung des Kontaktes durch eine Lähmung des zellulären Bewegungsmechanismus in der Kontaktregion zustande kommt. Eine Stütze für diese Hypothese ist, daß die Faltenbildung in der Kontaktregion nachweislich ausbleibt. Die Alternative wäre, daß die Zellen gegenüber dem Substrat eine größere Adhäsion aufweisen könnten als von Zelle zu Zelle. Denn dann wären sie unfähig, sich übereinander hinwegzubewegen und so ihre Bewegung in Richtung eines Kontaktes weiter fortzusetzen. Stünden Adhäsionskräfte hinter der Bewegung (vgl. den vorhergehenden Abschnitt), dann wären diese beiden Möglichkeiten äquivalent. Gegenwärtig kann man keine Entscheidung zwischen ihnen treffen, da sich für beide zwar plausible, aber keinesfalls zwingende Argumente ins Feld führen lassen.

Zur Bedeutung der Kontakthemmung zwischen Zellen im Gewebeverband liegen einige experimentelle Daten vor. Weston und Abercrombie (144) fanden keine Bewegung von Zellen über die Grenzflächen von miteinander peripher verschmolzenen Fragmenten aus dem embryonalen Hühnerherzen. Die Zellen in einem der Fragmente waren in diesen Versuchen mit ^{3}H-Thymidin markiert. Der Meinung der Autoren zufolge wäre eben das genannte Ergebnis als Konsequenz einer Kontakthemmung zu erwarten gewesen. Es sind jedoch Fälle bekannt, in denen sich Zellen innerhalb kompakter Aggregate einwandfrei bewegten, so während des gewebespezifischen Aussonderns (vgl. Abschnitt 4.3.4). Was die Bedeutung der Kontakthemmung beim Verhalten von Zellen anbelangt, die sich nicht auf einem artifiziellen Substrat befinden, ist die Situation also noch nicht frei von Widersprüchen.

Abschließend sollte noch bemerkt werden, daß die Bezeichnung Kontakthemmung oft mißbraucht wird. Viele sog. «norma-

le» Zell-Linien, die man auf einem Substrat wachsen läßt, stellen ihr Wachstum ein, wenn sie eine zusammenhängende einschichtige Zell-Lage auf der Oberfläche dieses Substrates gebildet haben. Dieses Wachstumsverhalten hat man «Kontakthemmung des Wachstums» genannt, weil der Endzustand – eine einschichtige Zell-Lage – demjenigen entspricht, der aus einer «Kontakthemmung der Bewegung» resultiert. Soweit ich es beurteilen kann, gibt es keine Beweisführung dafür, daß das Einstellen des Wachstums kausal auf den Zellkontakt zurückgeht. Man sollte hier deshalb besser einen *terminus technicus* verwenden, der nicht die eben erwähnte Vorstellung hinsichtlich des Mechanismus impliziert (125, 84). «Kontakthemmung» sollte nur unter Bezugnahme auf die Zellbewegung verwendet werden, und zwar in Situationen, in denen die Hemmung der Bewegung nachgewiesenermaßen auf den Kontakt zurückgeht.

4.3.2. Kontaktlähmung

In mehreren Fällen wurde beobachtet, daß Zellen dort, wo sie miteinander in Kontakt stehen, keine Pseudopodienaktivität aufweisen. Um diese Beobachtung zu umschreiben, wurde die Bezeichnung «Kontaktlähmung» vorgeschlagen (21). Sie soll aussagen, daß der Bewegungsapparat der Zellen im Bereich des interzellulären Kontaktes lokal gelähmt wird. Ein Beispiel ist das Einstellen der Faltungsaktivität in der Kontaktregion von Fibroblasten (vgl. den vorhergehenden Abschnitt). Ein anderes Exempel liefert die von Vaughan und Trinkaus (137) beschriebene Bewegung epithelialer Zellschichten. Während sich eine solche Schicht über das Substrat bewegt, sind die einzigen Zellen mit pseudopodialer Aktivität diejenigen an den Außenrändern, bei denen ein Teil der Zelloberfläche frei von interzellulären Kontakten ist. Zellen, die nicht an der Außenkante der Schicht liegen, weisen im allgemeinen keine Pseudopodienaktivität auf, es sei denn, sie würden den Kontakt mit einer Nachbarzelle verlieren. In diesem Fall können sie im nun freigesetzten Teil ihrer Oberfläche aktiv werden.

4.3.3. Kontaktorientierung

Diese Bezeichnung bezieht sich auf die Tendenz der Fibroblastenbewegung, sich entsprechend der physikalischen Struktur des Substrates auszurichten. Beispielsweise orientieren sich Fibroblasten entlang Glasfasern oder entlang flachen Rillen in einer Glas-

oberfläche (1431. Rosenberg (100) konnte zeigen, daß es zu dieser Ausrichtung kommt, wenn nur 6 nm tiefe Rillen in einer Oberfläche vorhanden sind, die aus einer monomolekularen Schicht von Stearinsäure auf Quarz besteht. Der Mechanismus dieser Orientierung ist unbekannt. Man könnte sich jedoch vorstellen, daß die Orientierung von Zellbewegungen auf ähnliche Art, vielleicht über Proteinfasern im jeweiligen Substrat, kontrolliert werden könnte.

4.3.4. Zelluläres Adhäsionsvermögen

Einige Möglichkeiten, wie die Adhäsionseigenschaften der Zellen ihr Verhalten beeinflussen könnten, wurden schon erwähnt. In diesem Abschnitt soll auf Hypothesen darüber eingegangen werden, wie das Adhäsionsvermögen Einfluß auf das Verhalten von Zellgruppen und Zellpopulationen nehmen könnte. Zuvor ist es indessen notwendig, eine etwas exaktere Begriffsbestimmung vorzunehmen, da der Begriff «Adhäsionsvermögen» oft in sehr weitem Sinne gebraucht wird. Genau genommen versteht man unter dem wechselseitigen Adhäsionsvermögen zweier Oberflächen die gesamte zwischen ihnen bestehende Adhäsionsstärke oder -energie. Die Gesamtenergie der Adhäsion ist dabei gleich dem in die Adhäsion einbezogenen Oberflächenbereich multipliziert mit der Adhäsionsenergie pro Flächeneinheit. Um zu verstehen, was denn mit «Adhäsionsenergie pro Flächeneinheit» gemeint ist, kann man sich vorstellen, die Oberflächen würden durch chemische Bindungen eines ganz bestimmten Energiegehaltes aneinander fixiert. Pro Flächeneinheit der miteinander in Kontakt stehenden Oberflächen wird eine bestimmte Anzahl solcher Bindungen vorhanden sein. Dann wird die Adhäsionsenergie pro Flächeneinheit von der Zahl und der Energie dieser Bindungen pro Flächeneinheit abhängen. Man sollte nun jedoch nicht auf den Gedanken kommen, die Oberflächen von miteinander in Kontakt stehenden Zellen würden über direkte chemische Bindungen zusammengehalten. Denn der Mechanismus der zellulären Adhäsion ist in Wirklichkeit noch außerordentlich umstritten, worauf einzugehen außerhalb der Zielsetzung dieses Buches liegt (vgl. Curtis [33] für Diskussionen und Literaturangaben).

Eine Hypothese dazu, wie Veränderungen im Adhäsionsvermögen zwischen Zellen für bestimmte morphogenetische Prozesse von Bedeutung sein könnten, wurde von Gustafson und Wolpert (60, 61) aufgestellt. Die Autoren interessierten sich vor allem im

Hinblick auf die Morphogenese beim Seeigel (vgl. das nächste Kapitel) dafür, wie der Krümmungsgrad von Zellschichten verändert werden könnte. Stellen wir uns eine flache Schicht würfelförmiger Zellen vor, die seitlich über Adhäsionskräfte in

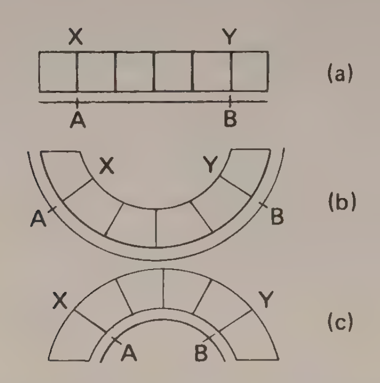


Abb. 4.8: Krümmung einer Zellschicht infolge von Veränderungen im Adhäsionsvermögen der Zellen. a) Die noch flache Zellschicht. b) Krümmung infolge eines Anstiegs des interzellulären Adhäsionsvermögens (Cohäsionsvermögens). c) Krümmung infolge einer Verminderung des interzellulären Adhäsionsvermögens (Cohäsionsvermögens) (nach Gustafson und Wolpert, 61).

wechselseitiger Verbindung stehen und an ihrer Unter- oder Oberseite fest an eine Membran gebunden sind (Abb. 4.8 a). Auf der Oberfläche der Zellschicht befinden sich die Punkte X und Y und auf der Membran die Punkte A und B. Die Entfernungen von X nach Y und von A nach B sind gleich. Auch die Querschnittsflächen der Zellen sind gleich. Wenn nun das wechselseitige Adhäsionsvermögen zwischen den Zellen (ihr Cohäsionsvermögen) erhöht wird, dann sollte sich auch die Adhäsionsfläche zwischen ihnen erhöhen. Das kann nur auf Kosten der freien Oberflächen geschehen, da die Zellen auf ihrer Unterseite ja fest auf der Membran fixiert sind. Die Zellen müßten sich an ihrer Spitze zusammenziehen, der Abstand X–Y müßte abnehmen, während der Abstand A–B konstant bleiben sollte. Die ganze Schicht sollte sich krümmen (Abb. 4.8 b). Über eine entsprechende Argumentation, nur daß man diesmal eine Abnahme des Adhäsionsvermögens annehmen müßte, könnte man verstehen, wie eine Krümmung in der entgegengesetzten Richtung zustande kommt

(Abb. 4.8 c). Aber auch aktive Kontraktionen der Zellen an ihrem oberen bzw. unteren Ende könnten zu den gleichen Veränderungen in der Krümmung der Schichten führen. Derartige lokale Kontraktionen könnten bei bestimmten morphogenetischen Prozessen eine Rolle spielen (vgl. das nächste Kapitel).

Eine andere Möglichkeit, wie das Verhalten der Zellen von ihrem Adhäsionsvermögen bestimmt werden könnte, wurde für das gewebespezifische Aussondern von embryonalen Zellen in Betracht gezogen. Wenn man Zellen aus zwei verschiedenen embryonalen Hühnergeweben, etwa aus Gliedmaßenknospen und Leber, zuerst aus dem Gewebeverband löst und dann in einem neuen Aggregat in zufallsgemäßer räumlicher Verteilung miteinander mischt, sondern sie sich entsprechend ihrem Gewebetyp voneinander ab. Die Zellen der zwei Gewebe nehmen eine «Kugel-in Kugel-»Anordnung ein, wobei die Zellen des einen Gewebetyps die des anderen einschließen (Abb. 4.9 a, b). Im Fall von Leber und Gliedmaßenknospe nehmen die Leberzellen die äußere Position ein: sie umgeben die Zellen aus der Gliedmaßenknospe (121). Diese Kugel-in-Kugel-Anordnung repräsentiert ein Gleich-

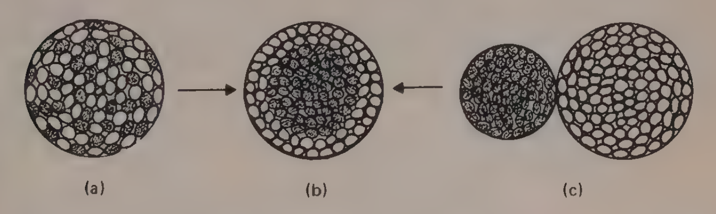


Abb. 4.9: Gewebespezifisches Aussondern embryonaler Zellen. b) zeigt die Gleichgewichtseinstellung als «Kugel-in-Kugel», zu der man von jeder der unter a) und c) angegebenen Ausgangssituationen kommen kann. Homotypische Adhäsion findet sich zwischen schwarzen und schwarzen Zellen sowie zwischen weißen und weißen Zellen, heterotypische Adhäsion zwischen schwarzen und weißen Zellen (teilweise nach Steinberg, 121).

gewicht in den Gestaltungstendenzen, denn sie kann auch von ganz anderen Ausgangsbedingungen aus erreicht werden. Denn nach der Fusion eines Aggregates aus Leberzellen mit einem anderen Aggregat aus Zellen von Gliedmaßenknospen kommt es ebenfalls zu einem Einschluß von «Gliedmaße» durch «Leber» (Abb. 4.9 b, c). Mehrere embryonale Hühnergewebe lassen sich

entsprechend ihrem Verhalten beim Aussondern in eine Hierarchie einordnen (122): Epidermis des Rückens, embryonaler Knorpel der Gliedmaßenknospen, Pigmentepithel des Auges, Herzventrikel, Neuralrohr, Leber. In dieser Reihe kann jedes Glied die vorangehenden einschließen und selbst von allen nachfolgenden eingeschlossen werden.

Steinbergs Hypothese der Differentiellen Adhäsion (121, 122) führt das Verhalten beim Aussondern auf Unterschiede in der Stärke der jeweiligen interzellulären Adhäsion zurück. Dieser Hypothese nach ordnen sich die Zellen wieder so an, daß ihre totale freie Adhäsionsenergie möglichst gering gehalten wird, d. h. daß sich innerhalb bestimmter geometrischer Einschränkungen eine maximale Stärke der Adhäsion zu anderen Zellen einstellt. Unter diesen Voraussetzungen, so nimmt man an, sondern sich die Zellpopulationen mit höherem Cohäsionsvermögen im Inneren derjenigen mit niedrigerem Cohäsionsvermögen ab. Im Fall von Leber und Gliedmaßenknospe weisen demnach die Zellen der letztgenannten ein höheres Cohäsionsvermögen auf. Die eben aufgeführte Hierarchie wäre dann eine Hierarchie im Cohäsionsvermögen.

Die Kugel-in-Kugel-Anordnung setzt voraus, daß die heterotypische Adhäsion (Adhäsion zwischen Zellen verschiedenen Typs) in ihrer Stärke die Mitte zwischen den beiden Möglichkeiten der homotypischen Adhäsion (Adhäsion zwischen Zellen des gleichen Typs) hält oder zumindest nicht schwächer ist als die schwächere homotypische Adhäsion. Diese Voraussetzung läßt sich in folgender Gleichung wiedergeben:

$$\left(\frac{W_a + W_b}{2}\right) > W_{ba} \geqslant W_b$$

wobei W_a = Stärke der stärkeren homotypischen Adhäsion, W_b = Stärke der schwächeren homotypischen Adhäsion, W_{ab} = Stärke der heterotypischen Adhäsion (121). Wäre W_{ab} schwächer als W_b, so käme es zu einer Trennung miteinander vermischter Zelltypen derart, wie man es beim artspezifischen Aussondern von Zellen aus Schwämmen gefunden hat (89).

Die Hypothese von der differentiellen Adhäsion ist nicht der einzige Vorschlag zur Erklärung des Aussonderns. Die verschiedenen Hypothesen werden von Curtis (33) diskutiert.

Eine Probe aufs Exempel bei jeder Hypothese, nach der das Zellverhalten über die Adhäsionseigenschaften erklärt werden soll, wäre die direkte Messung der interzellulären Adhäsionsstärke.

Solche Messungen sind in der Praxis außerordentlich schwierig. Gleichgewichtsmessungen der Cohäsionsstärke von Zellen wurden kürzlich von Phillips und Steinberg (96) durchgeführt. Ihre Daten führten zu dem Schluß, daß die Cohäsionsstärke von Zellen unter den gegebenen Umständen genau dem entsprach, was man auf Grund der Hypothese von der differentiellen Adhäsion zu erwarten hatte. Die Cohäsionsstärke der drei von ihnen untersuchten Gewebe läßt sich in die Reihenfolge Gliedmaßenknospe > Herz > Leber bringen (vgl. mit der oben erwähnten Hierarchie). Curtis (34) erhielt jedoch mit einer Technik, bei der sich die Zellen in einem linearen Scherungsgradienten zu aggregieren hatten, gerade die umgekehrte Reihenfolge. Da nun aber Curtis die Ausbildung von Adhäsionen untersuchte, Phillips und Steinberg sich dagegen mit der Stärke bereits vorhandener Adhäsionen befaßten, sind die verschiedenen Ergebnisse vielleicht gar nicht überraschend. Dabei ist es möglich, daß die Daten der letztgenannten Autoren für das Aussondern von größerer Relevanz sind.

Roth und Weston (102) und Roth (101) erhielten Versuchsergebnisse, die ihrer Meinung nach eher auf spezifische Adhäsionen zwischen Zellen als auf Unterschiede in der Stärke der Adhäsionen – wie sie die Hypothese von der differentiellen Adhäsion verlangt – schließen lassen. Sie verwendeten Zellaggregate, um einzelne Zellen aus Zellsuspensionen heraus aufzusammeln. Dabei zeigte es sich, daß die Aggregate ohne Ausnahme aus Zellsuspensionen des gleichen Gewebetyps mehr Zellen einfingen als aus Zellsuspensionen anderer Gewebetypen. Oberflächlich betrachtet, scheinen diese Resultate der Hypothese Steinbergs zu widersprechen, heterotypische Adhäsionen seien von intermediärer Stärke. Jedoch beziehen sich die Daten wiederum auf die Ausbildung von Adhäsionen. Außerdem konnte Curtis (35) die Ergebnisse nicht reproduzieren, so daß die Existenz von spezifischen Adhäsionen zwischen embryonalen Hühnerzellen keineswegs gesichert erscheint.

5. Spezielle Beispiele für Morphogenesen

5.1. Furchung

Die Furchung ist der besondere Typ von Zellteilung, über den die befruchtete Eizelle in Blastomeren unterteilt wird. Die erste Furchung, durch die das Ei in zwei Zellen geteilt wird, ist am besten untersucht. Bei Amphibien verläuft die erste Furchung vertikal und teilt das Ei entlang der zukünftigen Längsachse des Embryos. Eine Furchungsspalte bildet sich am animalen Pol und zieht sich dann allmählich um und durch das Ei bis zum vegetativen Pol, so daß es zu einer Zweiteilung kommt (Abb. 5.1).

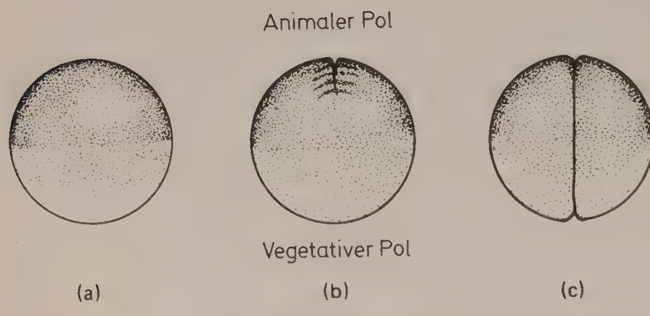


Abb. 5.1: Die erste Furchung des Amphibieneis. a) Ein befruchtetes, noch ungefurchtes Ei, an dem von oben nach unten die pigmentführende animale Region, der graue Halbmond und die weiße, dotterführende vegetative Region zu erkennen sind. b) Frühe Furchungsspalte am animalen Pol. c) Spätes Furchungsstadium. Die Furche hat sich um das ganze Ei herum ausgedehnt.

Mit der Furchung ist eine ganze Reihe von Problemen verknüpft, von denen zwei hier besprochen werden sollen. Bei dem ersten und augenfälligsten Problem handelt es sich um den Mechanismus, über den sich die Furche bildet und das Ei halbiert. Beim zweiten Problem geht es darum, daß bei der Teilung des Eis in zwei ungefähr halbkugelförmige Blastomeren 25–30 % mehr Zelloberfläche gebildet werden müssen. Dann fragt es sich,

woher und woraus die neue Oberfläche entsteht. Die genannten Probleme waren schon lange Gegenstand von Experimenten und Spekulationen, aber Antworten scheint erst in jüngster Zeit die Elektronenmikroskopie zu liefern. Die letzten über die Furchung der Amphibien veröffentlichten Arbeiten stammen von Selman und Perry (110) und von Bluemink (16). Diese Autoren geben auch kurze Übersichten und Hinweise auf frühere Arbeiten.

Bei Amphibien, Seeigeln (108), Anneliden (10) und Coelenteraten (128) konnte ein Ring von Mikrofilamenten (vgl. Kapitel 4) unmittelbar unterhalb der Zellmembran an der Basis der frühen Furchungsspalte aufgefunden werden (Abb. 5.2) a). Man hat angenommen, die Kontraktion dieser Filamente könne die Ursache dafür sein, daß sich die Furchungsspalte zusammenzieht. Bei Amphibien vermutet man, nur die ersten Stadien der Furchung ließen sich auf den Filamentring zurückführen (16). Denn unmittelbar nachdem die Furche das Ei zur Hälfte durchzogen hat, scheint, die vorrückende Front der Furche den Filamentring zu

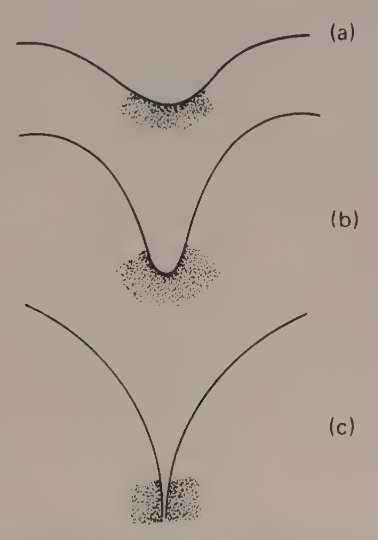


Abb. 5.2: Schematische Schnitte durch die Furchungsspalte am animalen Pol, im rechten Winkel zur Furchungsebene. (a) Frühe Furche, Lage des Ringes aus Mikrofilamenten unterhalb der Oberflächenmembran angegeben. b) Halb vollendete Furchung. c) Fortgeschrittenes Furchungsstadium. Der Filamentring ist gespalten. Seine Spalthälften sind nun parallel zur Furchungsebene orientiert (nach Bluemink, 16).

passieren, wobei sie ihn zweiteilt. In früheren Furchungsstadien ist der Filamentring im rechten Winkel zur Furchungsebene angeordnet. Nach der Zerlegung werden die zwei Teile des Ringes unterhalb der Membran auf gegenüberliegenden Seiten der Furche parallel zur Furchungsebene orientiert (Abb. 5.2 c).

Man nimmt an, daß die neue Membransubstanz an der Basis der Furche angefügt wird, weil sich die Membran in der Furche durch bestimmte Charakteristika von derjenigen an der Oberfläche des Eis unterscheidet (110). Nach dem Zerlegen des Filamentringes dürfte das weitere Vorrücken der Furche wohl nur über eine Art Membranwachstum zustande kommen. Während des Membranwachstums werden Haftpunkte zwischen Protuberanzen auf einander gegenüberliegenden Blastomerenoberflächen ausgebildet (16). Wahrscheinlich gibt es also zwei Phasen der Furchenbildung, eine erste, die von einem kontraktilen Ring aus Mikrofilamenten ausgeht, und eine zweite, die auf Membranwachstum und der Ausbildung von Haftpunkten basiert.

Behandlung der Eier mit Cytochalasin B (vgl. Kapitel 4) verhinderte die Kontraktionsphase nicht und führte auch nicht zur Zerstörung der Mikrofilamente. Die Wirksamkeit der Substanz schien vielmehr bei der Ausbildung der Haftpunkte zwischen den Blastomeren und beim Membranwachstum zu liegen. Denn bei den Behandlungen mit Cytochalasin B wurde die Furche rückgebildet, weil sich keine Haftpunkte ausbildeten und das Membranwachstum gehemmt wurde (15).

Es ließ sich zeigen, daß Calzium-Ionen, die in *Xenopus*-Eier durch Ionophorese mittels Glasmikroelektroden direkt unter der Oberflächenmembran eingebracht worden waren, dort eine Kontraktion der corticalen Schichten induzieren können (51). Eine Kontraktion kann auch durch lokale Beladung der Eioberfläche mit Polykationen wie Poly-L-lysin hervorgerufen werden. Voraussetzung hierfür ist die Anwesenheit von Calzium, Barium oder Strontium im umgebenden Medium. Ohne die Möglichkeit einer Schädigung der Oberflächenmembran durch Polykationen außer acht zu lassen, vermutet Gingell (50), daß sie an der Oberfläche absorbiert werden und dabei das Oberflächenpotential des Eis verändern. Die Veränderung im Oberflächenpotential könnte dann ihrerseits eine derartige Veränderung der Membranpermeabilität bedingen, daß es zu einem Influx von z. B. Calziumionen kommen kann. Die Calziumionen schließlich könnten dann die Kontraktion des Cytoplasmas unterhalb der Oberfläche auslösen. Das Oberflächenpotential der Membran wäre dieser

Auffassung zufolge ein Mittler, über den Außenreize ins Innere der Eizelle weitergeleitet werden könnten. Bloßes Streichen mit einer Glasnadel über die Eioberfläche induzierte ebenfalls eine Kontraktion an der Eioberfläche (154). Es ist möglich, daß die genannten Kontraktionsphänomene mit denjenigen verwandt sind, die bei der Furchung eine Rolle spielen.

Ein anderer interessanter Befund ist, daß die Mikrofilamente des kontraktilen Ringes actin-ähnlich zu sein scheinen. Denn sie formen mit dem schweren Meromyosin der Muskeln Komplexe (90) (vgl. auch Abschnitt 4).

Möglicherweise ist die neue Oberflächenmembran bei der Furchung der Eier des Anneliden *Pomatoceros triqueter* anderer Herkunft als bei Amphibien (10). Man stellte fest, daß hier die Oberflächenmembran vor der ersten Furchung gefaltet war.

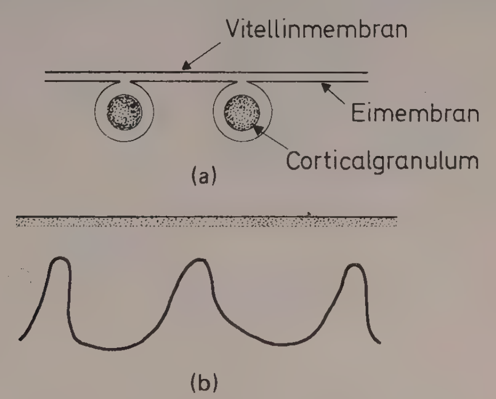


Abb. 5.3: Das Schema zeigt, wie durch die Öffnung der Corticalgranula die Oberflächenmembran vergrößert werden könnte. a) Die Situation vor der Befruchtung. b) Nach dem Öffnen der Granula. Der Inhalt der Corticalgranula wird an der inneren Oberfläche der Vitellinmembran abgelagert, die sich von der Eioberfläche abgehoben hat (nach Curtis, 33).

Nach der Furchung waren die Falten jedoch verschwunden, so daß die Vergrößerung der Oberfläche über die Entfaltung erklärt werden konnte. Die Entfaltung könnte zu einer Oberflächenvergrößerung von insgesamt 20 bis 39 Prozent führen. Daß Membranmaterial in der Furchungsspalte selbst zugefügt werden könnte, wurde hier für wenig wahrscheinlich gehalten. Die Membranfalten könnten möglicherweise aus den Membranen um die

Corticalgranula entstehen, die sich vor der Befruchtung unterhalb der Oberflächenmembran des Eis befinden (Abb. 5.3). Nach der Befruchtung entlassen sie ihren Inhalt in den perivitellinen Raum, also in den Bereich zwischen Eimembran und der umhüllenden Vitellinmembran. Es erscheint wahrscheinlich, daß auch die Oberfläche von sich furchenden Seeigeleiern durch das Öffnen der Granula vergrößert werden kann (151). Bei Molchen bleiben vor der Furchung vorhandene Membranfalten jedoch auch noch nach der Furchung erhalten (110).

5.2. Die zellulären Schleimpilze

Während seines Entwicklungszyklus durchläuft *Dictyostelium discoideum* eine Reihe morphogenetischer Veränderungen, die schließlich zur Ausbildung eines Fruchtkörpers mit ausgeprägtem

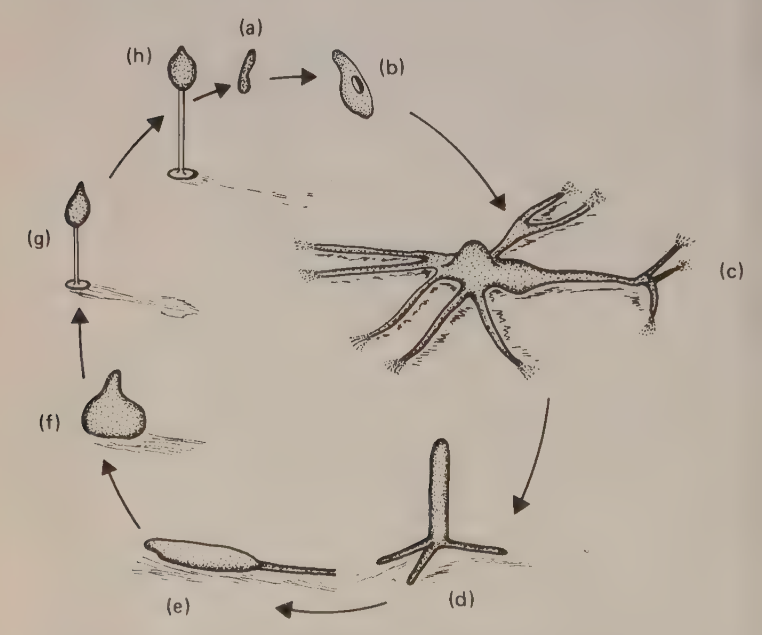


Abb. 5.4: Der Entwicklungszyklus des zellulären Schleimpilzes *Dictyostelium discoideum.* a) Spore, b) frei lebende amöboide Zelle im Vermehrungsstadium, c) Aggregationszentrum, umgeben von Aggregationsströmen, d) Conus, e) Migrationspseudoplasmodium, f) Frühes Kulminationsstadium, g) mittleres Kulminationsstadium, h) Fruchtkörper.

Zellmuster führen (vgl. Kapitel 2, Abb. 5.4). Der erste Teil des Entwicklungszyklus besteht aus einer Vermehrungs- und Freßphase, in der die Zellen Bakterien und andere Mikroorganismen fressen und sich durch Teilung vermehren. Wenn das Nahrungsangebot erschöpft ist, beginnt die zweite Phase des Entwicklungszyklus. Die Zellen schließen sich zunächst zu losen Anhäufungen (Cumuli) zusammen. Dann setzt ein dramatischer Aggregationsprozeß ein, in dessen Verlauf sich die Zellen stromweise auf Aggregationszentren zubewegen. In einem solchen Aggregationszentrum türmen sich die Zellen zunächst zu einem hügelartigen Gebilde, einem Colliculus auf, der von einer dünnen Schleimhaut aus Mucopolysacchariden umgeben wird. Von diesem Stadium ab verhält sich die Zellmasse, die nun ein Pseudoplasmodium darstellt, wie ein selbständiger Organismus. Sie zeigt «konzertierte» Reaktionen auf Außenreize wie Licht, Temperatur und Feuchtigkeit. Im weiteren Verlauf erhebt sich das Pseudoplasmodium unter Verlängerung vom Substrat. Aus diesem länglichen «Conus» wird dadurch ein Migrationspseudoplasmodium, daß er sich auf das Substrat senkt und über es hinwegzukriechen beginnt. Nach Abschluß der Wanderung stellt sich die Spitze des Pseudoplasmodiums in eine vertikale Position. Die übrigen Zellen schließen dicht auf. Nun setzt die Bildung des Fruchtkörpers ein. Spitzenzellen beginnen einen Stiel zu bilden, der durch die Zellmasse nach unten wächst und Kontakt mit dem Substrat aufnimmt. In dem Maß, in dem die Stielbildung fortschreitet, wird die Zellmasse über das Substrat emporgehoben (Kulmination). Diejenigen Zellen, die nicht in den Stiel eingehen, werden schließlich zu Sporen.

Der gesamte Entwicklungszyklus ist im Hinblick auf die Morphogenese von Interesse. Aber besonders ein Stadium, die Aggregation, wurde sehr eingehend untersucht. Ein Grund hierfür ist, daß die Aggregation eine mikroskopische Beobachtung individueller Zellen zuläßt, weil die Zellen mit dem Substrat in Kontakt bleiben. Sind sie erst einmal in das Aggregationszentrum eingegangen, wird es schwierig oder unmöglich, das Verhalten einzelner Zellen zu beobachten. Zwei wichtige Aspekte beim Aggregationsprozeß sind die Chemotaxis und die Wechselwirkungen beim Kontakt zwischen den Zellen. Hier wollen wir uns mit dem letzten Punkt befassen. Die Chemotaxis soll im nächsten Kapitel besprochen werden, das sich mit der interzellulären Kommunikation befaßt.

Beobachtungen der Zellen auf einer Agaroberfläche lassen den

Schluß zu, daß sie während der Vermehrungsphase nicht fest aneinander haften. Aber kurz nach der Vermehrungsphase beginnen sie zu agglutinieren, woraus man auf eine erhöhte wechselseitige Adhäsion schließen kann (113). Kürzlich ließ sich zeigen, daß dieser Schluß berechtigt sein dürfte. Während der Vermehrungsphase haften die Zellen in der Tat nicht sehr fest aneinander. Aber unmittelbar nach der Vermehrungsphase und geraume Zeit vor dem Einsetzen der Aggregation kommt es zu einem starken Anstieg im Adhäsionsvermögen (43). Wahrscheinlich ist dieses erhöhte Adhäsionsvermögen für die Tendenz zur Bildung von Cumuli verantwortlich, eine zusätzliche Veränderung im Adhäsionsvermögen jedoch für die Aggregation. Dieser Schluß wird durch die Beobachtung nahegelegt, daß die Adhäsion von Zellen nach dem Vermehrungsstadium durch Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) gehemmt werden kann, etwas später jedoch diejenige von Zellen unmittelbar vor der Aggregation nicht mehr (48). (EDTA bildet mit bivalenten Kationen Chelate. Oft hemmt die Substanz Adhäsionsvorgänge oder führt zur Trennung aneinander haftender Zellen.)

Die Adhäsionseigenschaften der Schleimpilzzellen sind vor allem aus zwei Gründen in Hinblick auf die Morphogenese interessant. Erstens sind die Adhäsionseigenschaften teilweise dafür verantwortlich, daß die späteren vielzelligen Stadien als Einheit erhalten bleiben. Zweitens scheinen Adhäsionseigenschaften eine wichtige Rolle dabei zu spielen, daß Zellen, die sich zu einem

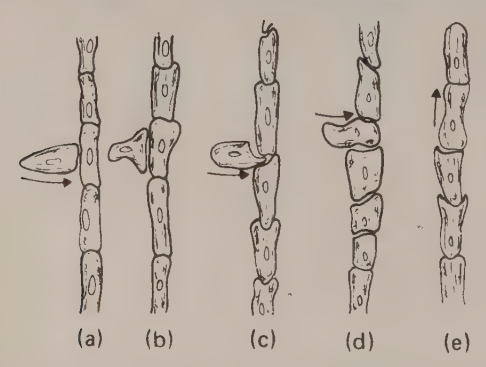


Abb. 5.5: Folgen über Kontakt bei der Aggregation und das Verhalten einer Zelle, die sich von der Seite einem Aggregationsstrom nähert und schließlich in ihn eintritt. Der Aggregationsstrom bewegt sich im Bild nach oben (nach Shaffer, 116).

Aggregationsstrom vereinigt haben, nun auch zum Aggregationszentrum hin geleitet werden. Zellen in Aggregationsströmen sind in der Bewegungsrichtung gestreckt und haften «Kopf an Schwanz» aneinander. Auf diese Weise folgt eine Zelle der anderen auf das Aggregationszentrum zu. Ihr Verhalten wurde zutreffenderweise «Folgen über Kontakt» genannt (114). Eine Zelle, die sich einem Aggregationsstrom im rechten Winkel zur Strömungsrichtung nähert, gliedert sich in den Strom nicht im Augenblick der ersten Kontaktnahme ein, sondern wartet, bis die Hinterseite einer der Zellen im Strom an ihr vorbeiwandert (Abb. 5.5). Dann heftet sie sich an dieses Hinterende an, gliedert sich «Kopf» voran in den Strom ein und folgt ihm zum Zentrum (116). Obwohl über die Bedeutung des Folgens über Kontakt generelle Übereinstimmung herrscht, ist sein Mechanismus bis jetzt umstritten (117, 42). Wichtig ist, daß das Folgen über Kontakt nicht durch EDTA gehemmt wird. Demnach sind es wahrscheinlich die EDTA-insensitiven Eigenschaften aggregations-kompetenter Zellen (vgl oben), die beim Kontakt von Zellende zu Zellende eine Rolle spielen. Möglicherweise ist die Fähigkeit zur Ausbildung der Adhäsionen in einer an der Zelloberfläche umlaufenden bandartigen Zone lokalisiert (48).

Auch die Bewegung des Migrationspseudoplasmodiums bietet einige interessante Probleme, nicht zuletzt das, wie seine langge-

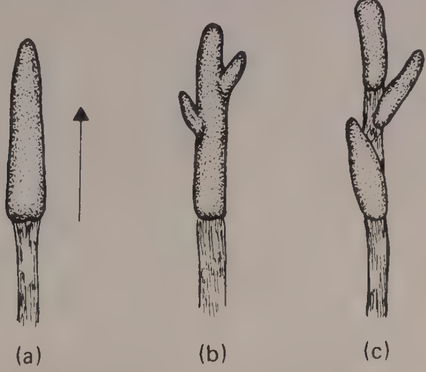


Abb. 5.6: Seitliches Aufpfropfen von Spitzenstücken auf ein Migrationspseudoplasmodium. a) Das Pseudoplasmodium bewegt sich in Pfeilrichtung, wobei es eine Schleimschicht hinter sich läßt. b) Zusätzliche Spitzenstücke werden aufgepfropft. c) Dreiteilung des Migrationspseudoplasmodiums, wobei die Zellen dem jeweils unmittelbar vor ihnen befindlichen Spitzenstück folgen (nach Raper, 97).

streckte, schneckenartige Gestalt entsteht und aufrecht erhalten wird. Das Pseudoplasmodium ist von einer Schleimscheide umgeben, die auf das Substrat bezogen stationär bleibt, während sich die Zellmasse durch sie hindurch bewegt. Diese Scheide kollabiert hinter dem Pseudoplasmodium auf dem Substrat, so daß eine Schleimspur den Weg kennzeichnet, den das Pseudoplasmodium genommen hat. Die Scheide muß also fortwährend neu gebildet werden – vermutlich an der Spitze des Pseudoplasmodiums. Das Pseudoplasmodium kann zum Halt und zur Fruchtkörperbildung gebracht werden, wenn man seine äußerste Spitze mit einer Glasnadel in Unordnung bringt. Wenn man ein Pseudoplasmodium in zwei Stücke querteilt, kann das Spitzenstück die Wanderung fortsetzen, aber die hintere Hälfte beginnt mit der Fruchtkörperbildung (vgl. Kapitel 3). Pfropft man eine Anzahl von Spitzenstücken seitlich auf ein Migrationspseudoplasmodium, so zieht jedes von ihnen die unmittelbar hinter ihm liegenden Zellen als Gefolge an sich, so daß das eine Pseudoplasmodium in mehrere kleinere zerfällt (97) (Abb. 5.6). Die Bewegungsrichtung einer größeren Anzahl von Zellen läßt sich jedoch nicht dadurch umkehren, daß man ein Spitzenstück auf das Hinterende eines anderen Pseudoplasmodiums aufpfropft. Nichtsdestoweniger ist es ziemlich wahrscheinlich, daß die Spitze – und auch die Schleimscheide – bei der Polarisierung der Pseudoplasmodiumbewegung eine wichtige Rolle spielen. Eine Hypothese hierzu wäre, die Schleimscheide könne die Bewegung der in ihr befindlichen Zellen dadurch kanalisieren, daß sie einer Vorwärtsbewegung den geringsten Widerstand entgegensetzt (42). Das könnte dann möglich sein, wenn die Schleimscheide nur an der Spitze synthetisiert würde oder dort stärker deformierbar wäre als sonstwo an der Oberfläche des Pseudoplasmodiums. Einige Indizien dafür, daß die eine oder auch beide dieser Möglichkeiten realisiert sein könnten, sind vorhanden (44). Das Folgen über Kontakt ist wahrscheinlich auch für die Polarität der Pseudoplasmodienbewegung von Bedeutung. Es läßt sich untersuchen, wenn man ein Pseudoplasmodium zwischen einer dünnen Agarschicht und einem Deckglas zerquetscht, um eine einzige Zellschicht zu erhalten. Diese kann man dann unter dem Mikroskop beobachten.

Im Migrationspseudoplasmodium sind die Zellen einige Lagen hoch übereinander gestapelt. Ein interessantes Problem ergibt sich dann, wenn man sich verständlich machen will, wieso sich denn die Zellen oben mit der gleichen Geschwindigkeit voranbe-

wegen wie die Zellen unten (114, 117). Stellen wir uns nur einmal zwei übereinanderliegende Zellschichten vor, die sich beide in der gleichen Richtung bewegen. Wenn die oberen Zellen den Rücken der unteren Zellen als Substrat benützen, dann sollten sie sich auf das wahre Substrat bezogen doppelt so schnell voranbewegen wie die unteren Zellen. Wenn jedoch die oberen und unteren Oberflächen der Zellen während der Bewegung stationär bleiben – was bei einem Turnover der Zelloberflächen (vgl. Kapitel 4) der Fall wäre – könnten sich beide Schichten mit der gleichen Geschwindigkeit voranbewegen. Eine Alternative wäre, daß die oberen und unteren Oberflächen der Zellen aneinander vorbeigleiten könnten und daß die Zellen ihre Begung nicht auf die Zellen darunter abstimmten, sondern den jeweils vorderen Zellen folgten (42, 149).

Was die Morphogenese der zellulären Schleimpilze anbelangt, gibt es noch zahlreiche weitere Probleme, die hier nicht diskutiert werden können. Vollständige Übersichten wurden von Shaffer (114) und Bonner (18) gegeben. Viele der Experimente, die in Übersichtsartikeln beschrieben werden oder auf die verwiesen wird, können sehr leicht mittels einfacher Glasgeräte und eines Binokularmikroskopes von Studenten im Labor ausgeführt werden.

5.3. Die Gastrulation bei Seeigeln

Die Morphogenese des Seeigelembryos ist wohl besser bekannt als jeder andere Entwicklungsprozeß. Ein Grund hierfür ist, daß der Embryo durchsichtig ist, so daß die Aktivität der Zellen in seinem Inneren beobachtet werden kann. In erheblichem Ausmaß wurde die Zeitraffer-Filmtechnik eingesetzt, um das Verhalten dieser Zellen zu dokumentieren und zu analysieren. Um diese Technik wirkungsvoll zur Anwendung bringen zu können, muß der Embryo zuerst immobilisiert werden. Denn in den frühen Entwicklungsstadien rotiert er schnell, angetrieben von Cilien auf seiner äußeren Oberfläche. Man kann die Embryonen z. B. in einem feinen Nylonnetz, das in seinem Maschenwerk Kristalle aus Calziumkarbonat trägt, fangen und fixieren (58). Über den zellulären Aspekt der Seeigelmorphogenese wurde von Gustafson und Wolpert (61) eine detaillierte Übersicht gegeben. Hier wollen wir uns nur mit einem Stadium dieser Entwicklung befassen, mit der Gastrulation.

Die Seeigelblastula ist ein Hohlball aus Zellen, der über Furchungen aus dem Ei angeliefert wird. Die animale Hälfte der

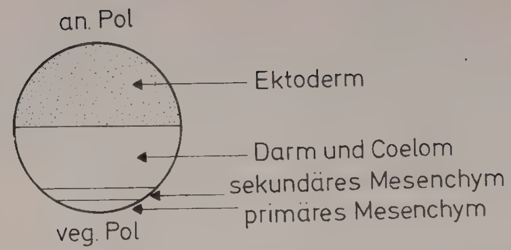


Abb. 5.7: Prospektive Potenz der einzelnen Bezirke der Seeigelblastula unter Bezugnahme auf die Vorgänge bei der Gastrulation. Die ganze vegetative Hälfte wird nach innen verlagert, während sich die animale Hälfte, das Ektoderm, ausdehnt und sie umschließt.

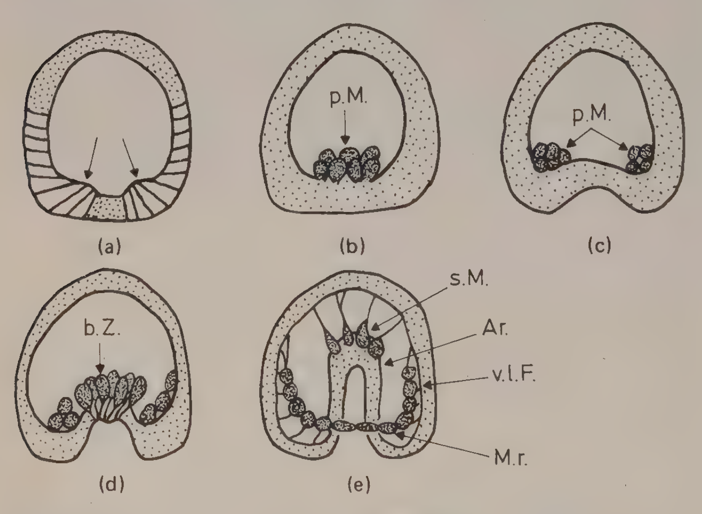


Abb. 5.8: Stadien der Gastrulation des Seeigels. a) Späte Blastula mit ventrolateralen Verdickungen (Pfeile) und erhöhter Krümmung im verdickten Bereich. b) Frühe Gastrulation. Verlust der interzellulären Adhäsionsfähigkeiten im primären Mesenchym (pM). c) Erstes Stadium in der Wanderung des primären Mesenchyms. d) Birnenförmige Zellen (bZ) am Dach des Archenterons: das erste Stadium der Invagination. e) Späte Gastrula mit Filopodienaktivität der sekundären Mesenchymzellen (sM) am Dach des Archenterons (ar) und Musterbildung im primären Mesenchym: Bildung eines Ringes um das Archenteron (Mr) mit ventrolateralen Fortsätzen (vlF) (nach Gustafson und Wolpert, 61).

Blastula besteht aus prospektivem Ektoderm, das dann später die Außenschicht der Pluteuslarve bildet (Abb. 5.7). (Diese Larve stellt nur ein Verbreitungsstadium dar; der eigentliche Seeigel entwickelt sich später aus einem kleinen Teil der Larve, dem «Echinus-Rudiment».) Die Zellen der vegetativen Hälfte bilden später die inneren Strukturen des Pluteus (Darm, Coelom, Skelett etc.). Aber zuvor müssen sie während der Gastrulation ins Innere des Ektoderms verlagert werden. Die Gastrulation verläuft im wesentlichen in zwei Teilschritten. Der erste Teilschritt ist die Einwärtswanderung der Zellen vom äußersten vegetativen Pol, des primären Mesenchyms (Abb. 5.8 a, b, c). Seine Zellen bilden das Skelett des Pluteus. Der zweite Teilschritt ist die eigentliche Gastrulation, die die Invagination der gesamten vegetativen Hälfte des Embryos umfaßt. Aus ihr wird der Darm des Pluteus gebildet, der dann durch Knospung das Coelom abgliedert (Abb. 5.8 d, e).

Die Wanderung des primären Mesenchyms beginnt damit, daß die betreffenden Zellen den Kontakt untereinander und mit der umgebenden Hyalinmembran verlieren (Abb. 5.8). Sie bewegen sich dann in einem unbekannten Mechanismus ins Blastocoel und konzentrieren sich an den Innenwänden der vegetativen Hälfte (Abb. 5.8 c). Dann wandern sie entlang der inneren Oberfläche und bilden ein charakteristisches Muster aus: einen Ring entlang der vegetativen Region mit zwei Fortsätzen (Abb. 5.8 e). Dieser Entwicklungsstand wird mit Hilfe von Filopodien (vgl. Kapitel 4) erreicht, die ungefähr 0,5 nm im Durchmesser und bis zu 40 nm in der Länge aufweisen. Die Richtung, in die die Filopodien ausgestreckt werden, ist ebenso vom Zufall bestimmt wie anfangs die Bewegung der Zellen. Man nimmt jedoch an, daß die Filopodien in bestimmten Regionen besser haften und daß das Muster, das sie schließlich bilden, durch ein Muster entsprechender Adhäsionseigenschaften der Blastocoelwandung bedingt wird. Denn die primären Mesenchymzellen häufen sich dort an, wo das Ektoderm am dicksten ist und wo sich eine charakteristische Art von Verbindung zwischen den Ektodermzellen findet. In den dicken Regionen – und sonst nirgendwo – weisen die Ektodermzellen innen wie außen Haftpunkte auf, über die sie miteinander in Verbindung stehen (Abb. 5.9). Zwischen diesen Haftpunkten sind ihre Membranen weit voneinander entfernt. Es wurde beobachtet, daß die Filopodien der primären Mesenchymzellen an den Haftpunkten auf der Innenseite ansetzen. Wo solche inneren Haftpunkte fehlen, heften sich auch die

Filopodien nicht an (56). Deshalb nimmt man an, die Verteilung der Haftpunkte auf der inneren Blastocoelwand könne die Anordnung der primären Mesenchymzellen determinieren – und zwar dadurch, daß sie den Filopodien der primären Mesenchymzellen die Möglichkeit einer besonders festen Bindung geben und damit ihre Bewegung ausrichten (vgl. Kapitel 4, Abschnitt 4).

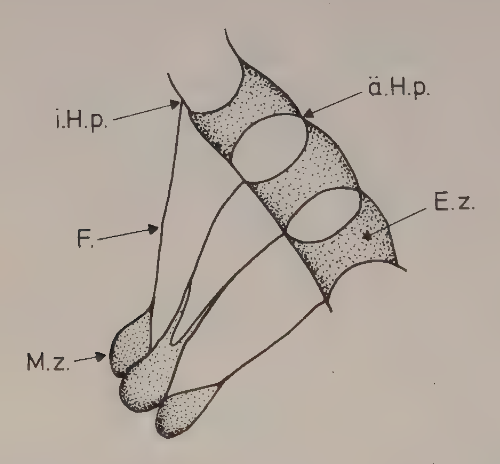


Abb. 5.9: Schema der äußeren und inneren Haftpunkte zwischen Ektozellen (sM) am Dach des Archenterons (Ar) und Musterbildung im pridermzellen, an denen die Filopodien der Mesenchymzellen ansetzen. Ez = Ektodermzelle; Mz = Mesenchymzelle; äHp = äußerer Haftpunkt; iHp = innerer Haftpunkt; F = Filopodium (nach Gustafson, 57).

Das charakteristische Adhäsionsmuster der Ektodermzellen mit seinen äußeren und inneren Haftpunkten und den Lücken zwischen den Zellmembranen könnte durch die Dehnung des Ektoderms zustande kommen. Ganz offensichtlich muß es während der Gastrulation zu einer beträchtlichen Dehnung des Ektoderms kommen. Denn das Ektoderm der animalen Region muß sich derart vergrößern, daß es nach Invagination der vegetativen Region den gesamten Embryo umgeben kann. Das Ektoderm besteht aus einer einzigen Zell-Lage. Die einzige Möglichkeit zu seiner Vergrößerung – Teilungen finden nicht mehr statt – ist dann, daß jede einzelne Zelle ein größeres Areal einnimmt. Damit in Einklang steht auch die Beobachtung, daß das Ektoderm im allgemeinen während der Gastrulation dünner wird.

Der zweite Teilschritt der Gastrulation, die Invagination, läßt sich wieder in zwei Phasen gliedern. Die Notwendigkeit hierzu ergab sich, nachdem man nach gleichen Zeitintervallen jeweils die Länge des Archenterons während der Invagination gemessen hatte (59). Auf eine Phase eines langsamen Einwärtsbiegens der vegetativen Region folgte eine Phase einer schnellen Invagination.

Ein Einwärtsbiegen der vegetativen Region findet sich auch an isolierten vegetativen Hälften (87). Infolgedessen ist es unwahrscheinlich, daß die Invagination auf eine Differenz im hydrostatischen Druck der Blastula zurückgeht. Vielmehr muß die Triebkraft zur Invagination in der vegetativen Hälfte selbst entstehen. Möglicherweise leiten Veränderungen in den Adhäsionseigenschaften der Zellen in der vegetativen Region die Invagination ein – und zwar über eine Krümmung der Zellschicht nach der Hypothese von Gustafson und Wolpert (61) (vgl. Kapitel 4). Zellen im Zentrum des vegetativen Pols lockern den Kontakt untereinander, aber im Gegensatz zum primären Mesenchym nicht mit der Hyalinmembran. Sie werden infolgessen birnenförmig (Abb. 5.8 d; man beachte die Ähnlichkeit mit den «Flaschenzellen» bei der Gastrulation der Amphibien, Abschnitt 5.4), was zu einem Einwärtsbiegen der vegetativen Region führt (vgl. Abschnitt 4.3).

Während des späten Blastulastadiums kommt es in einer ringförmigen Zone etwas oberhalb des vegetativen Pols zu einer Verstärkung des Zellkontaktes (Abb. 5.8 a, Pfeile). Die Zellen in diesem Bereich verlieren den Kontakt mit der Hyalinmembran nicht. Sie werden infolgedessen dicker und nehmen einen dreieckigen Querschnitt an, wobei die Spitzen der Dreiecke zum Blastocoel hin gerichtet sind. Wahrscheinlich wegen dieser Veränderungen krümmt sich das Blastoderm hier stärker, während der äußerste vegetative Pol abgeflacht wird. Gustafson und Wolpert (61) vermuten, der Ring aus verdickten Zellen könne die Invagination während der frühen Stadien der Gastrulation limitieren.

Die zweite, schnellere Phase der Invagination setzt ein, wenn die Zellen auf dem Dach des Archenterons (das zukünftige sekundäre Mesenchym) damit beginnen, Filopodien auszubilden (37) (Abb. 5.8 e). Man nimmt an, die Kontraktion von an der inneren Blastocoelwand befestigten Filopodien könne die weitere Invagination bewirken. Gustafson und Wolpert haben berechnet, daß die für die Invagination benötigte Kraft bei 10^{-2} dyn liegt

(61). Sehr wahrscheinlich können Zellen Kräfte in dieser Größenordnung produzieren (149).

Während der zweiten Phase der Invagination bewegt sich das Dach des Archenterons zunächst in Richtung des animalen Pols und biegt dann zur ventralen Seite des Embryos um, wo es mit der späteren Mundregion Kontakt aufnimmt. Wiederum scheint es möglich, daß diese Bewegung teilweise über innere Haftstellen im Ektoderm ausgerichtet wird, an denen Filopodien ansetzen.

Tilney und Gibbons (133) zeigten, daß Mikrotubuli entlang der Längsachse der Filopodien des Seeigel-Mesenchyms angeordnet sind. Wenn man die Embryonen mit Colchizin behandelte oder hohem hydrostatischen Druck aussetzte, zogen die Zellen ihre Filopodien ein und wurden kugelförmig; die Gastrulation setzte aus. Die Mikrotubuli wurden durch die erwähnten Behandlungen zerstört. D_2O, das die Mikrotubuli stabilisiert, brachte die Gastrulation ebenfalls zum Stillstand. Es wurde angenommen, die Mikrotubuli seien in den mesenchymalen Filopodien als formgebende Elemente von Bedeutung.

5.4. Invaginationsbewegungen in der Entwicklung der Amphibien: Gastrulation und Neurulation

Wie im Falle der Furchung wurden auch alle neueren Arbeiten über Invaginationsbewegungen bei Amphibien mit Hilfe des Elektronenmikroskopes durchgeführt. Ihre Ergebnisse lassen einige Ähnlichkeit zwischen den Gastrulations- und Neurulationsbewegungen und möglicherweise auch mit den frühen Invaginationsstadien bei der Gastrulation des Seeigels vermuten. Wir werden hier den normalen chronologischen Ablauf umkehren und die Neurulation zuerst besprechen, weil sie geradliniger zu verlaufen scheint als die Gastrulation. Die Frage ist hier, wie sich die am Ende der Gastrulation noch flache Neuralplatte zu dem Rohr aufrollt, aus dem dann später das Zentralnervensystem entsteht (Abb. 5.10). Baker und Schroeder (12) und Schroeder (109) verfolgten die Gestaltsänderungen der Zellen in der Neuralplatte während des Aufrollens. Die Zellen in der mittleren Region der Platte sind zu Beginn der Neurulation würfelförmig. Während sich das Neuralrohr durch Einrollen zu bilden beginnt, werden sie an ihren Außenseiten schmaler und verlängern sich nach unten zu. Die Verschmälerung der äußeren Oberflächen scheint auf eine Kontraktion in einer zu den Außenseiten parallelen Ebene zurückzugehen. Stütze hierfür ist die Beobachtung, daß die Außen-

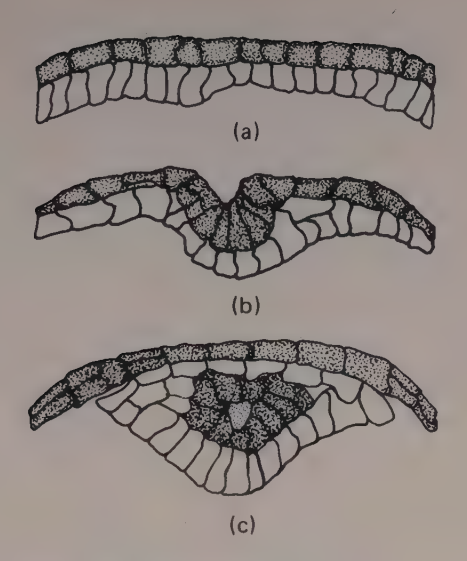


Abb. 5.10: Stadien beim Schließen des Neuralrohres bei Amphibien mit den Gestaltsänderungen in der äußeren Zellschicht (schattiert). Schematische Querschnitte von a) Neuralplatte, b) Neuralrinne und c) Neuralrohr (nach Karfunkel, 74).

flächen gefaltet werden. Die Kontraktion könnte durch Mikrofilamente erfolgen, die in der äußeren Partie der Zellen ringartig angeordnet sind. Dieser Ring aus Mikrofilamenten liegt parallel zur Außenseite und unmittelbar unter ihr (Abb. 5.11).

Kontraktionen von Zellen auf einer Seite einer Zellschicht können zu einer Krümmung der Zellschicht nach der Seite führen, auf der die Kontraktionen stattfinden (vgl. Abschnitt 4.3.4). Voraussetzung hierfür ist, daß die Zellen entweder an einer Basal- oder Deckmembran oder auch seitlich unter sich selbst festen Kontakt aufweisen. Baker und Schroeder zeigten, daß es in einer von ihnen apikale Kontaktzone genannten Region Desmosomen gibt. Diese Zone liegt unmittelbar unter der äußeren Oberfläche der Neuralplatte in den Seitenwänden der Neuralplattenzellen. Desmosomen sind interzelluläre Verbindungen, von denen man annimmt, sie seien Orte eines besonders festen interzellulären Kontaktes (Abb. 5.12).

Ebenso wie die Zellen der Neuralplatte während der Neurulation an ihrer Außenseite schmaler werden, verlängern sie sich

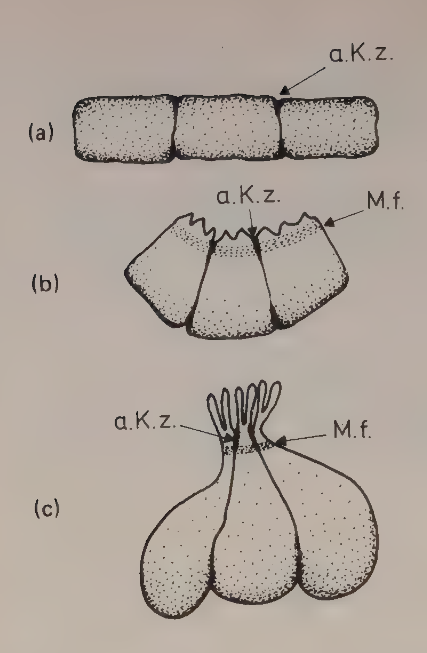


Abb. 5.11: Gestaltsänderungen der Zellen im Zentrum der Neuralplatte mit der Position des Mikrofilamentringes (Mf) und der apikalen Kontaktzone (aKz). a) Stadium der Neuralplatte. b) Stadium der Neuralrinne. c) Stadium des Neuralrohrs (nach Baker und Schroeder, 12).

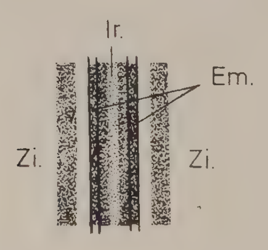


Abb. 5.12: Schematische Wiedergabe eines elektronenmikroskopischen Bildes eines Desmosoms. Man achte auf das dichte Material im Interzellularraum und auf der cytoplasmatischen Seite der Elementarmembranen. Ir = Interzellularraum, Em = Elementarmembran, Zi = Zellinneres.

wie schon erwähnt auch, und zwar senkrecht zur Oberfläche der Platte. Waddington und Perry (139) fanden in solchen Zellen Mikrotubuli, die in Richtung der Streckung ausgerichtet waren. Diese Mikrotubuli könnten bei den Gestaltsänderungen der betreffenden Zellen eine wichtige Rolle spielen.

Karfunkel (74) behandelte Neurulastadien von *Xenopus* mit Vinblastinsulfat, das Mikrotubuli ebenso wie Mikrofilamente zerstört. Durch diese Behandlung wurden die Gestaltsänderungen der Zellen in der Neuralplatte und dann auch die Neurulation selbst verhindert. Wenn man die Substanz erst nach Beginn der Neurulation zuführte, wurden schon erfolgte Veränderungen in der Zellform wieder rückgängig gemacht. Die Ergebnisse der Behandlungen mit Vinblastinsulfat stützen Hypothesen, denen zufolge Mikrofilamente und Mikrotubuli die Gestaltsänderungen der Zellen in der Neuralplatte verursachen sollen.

Bei einem Längsschnitt durch die frühe Amphibiengastrula bemerkt man an der dorsalen Lippe des Blastopors die sog. «Flaschenzellen» (Abb. 5.13). Sie besitzen extrem lange, dünne «Hälse», die an der äußeren Oberfläche des Embryos befestigt sind. Die inneren Zellenden sind knollig verdickt, so daß die Zellen insgesamt ungefähr wie Flaschen aussehen. Weil sie mit Beginn der Gastrulation ausgebildet werden und sich an der dorsalen Lippe des Blastopors befinden, wo die Invagination einsetzt, ist es einleuchtend, daß sie etwas mit dem Invaginationsprozeß zu tun haben könnten. Die Flaschenzellen bleiben bei weiter fortschreitender Invagination einige Zeit am Dach des Archenterons erhalten, wobei sie ihre längliche Gestalt beibehalten und nach

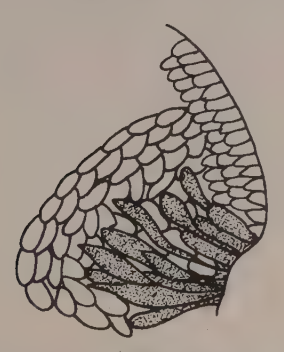


Abb. 5.13: Schemazeichnung mit «Flaschenzellen» (schattiert) an der dorsalen Urmundlippe einer frühen Gastrula (nach Holtfreter, 65).

wie vor an der Oberfläche des Embryos festhaften. Auch die ventrale Lippe des Blastopors weist Flaschenzellen auf, die später als diejenigen an der dorsalen Lippe auftreten. Im übrigen gibt es eine beträchtliche Anzahl von Arbeiten über die Gastrulation der Amphibien, von denen diejenigen von Holtfreter (64, 65, 66) für den fortgeschrittenen Studenten am interessantesten sind. Hier wollen wir uns jedoch in erster Linie mit neueren elektronenoptischen Befunden zu den Flaschenzellen der dorsalen Urmundlippe befassen.

Offensichtlich gibt es bestimmte Übereinstimmungen zwischen den Flaschenzellen und den Zellen der Neuralplatte während der Neuralation. Vor der Gastrulation sind die zukünftigen Flaschenzellen ebenfalls ungefähr würfelförmig. Der Übergang zur Flaschenform findet erst bei der Ausbildung der dorsalen Lippe des Blastorpors statt. Bei diesem Gestaltswechsel kommt es wieder zu einer Faltung der äußeren Zelloberfläche, so daß eine Kontraktion in den außen liegenden Zellbereichen angenommen werden kann (11, 91). Baker ist der Meinung, es könne sich dabei um aktive Kontraktionen durch Mikrofilamente handeln, die im an die äußere Oberflächenmembran anschließenden Cytoplasma lokalisiert sind. Perry und Waddington vertreten dagegen die Auffassung, die Ausbildung der schmalen Zellhälse könne das Ergebnis einer Streckung sein, bei der hintereinander aufgereihte Mikrotubuli eine Rolle spielen.

Wieder vorausgesetzt, daß die Zellen fest zusammenhaften, könnte eine Verschmälerung ihrer Außenpartien eine Einwärtsbiegung der Gastrulaoberfläche zuwege bringen. Holtfreter (64) nahm an, es gäbe beim Amphibienembryo eine oberflächliche Hüllschicht, der die Zellen fest anhaften. Diese Auffassung wurde bestritten, wenn auch nicht widerlegt. Es ist wahrscheinlich, daß die Zellen seitlich festen Kontakt untereinander aufweisen, wobei sie nicht von Desmosomen, sondern von fingerartig ineinandergreifenden Fortsätzen zusammenhalten werden. Solche Fortsätze konnten bei Querschnitten durch die «Hälse» eindeutig festgestellt werden (91).

Selbst wenn die Verschmälerung der Flaschenhalszellen für die ersten Stadien der Invagination bei Amphibien verantwortlich sein sollte, scheint es unwahrscheinlich, daß sie diese Rolle auch in den späteren Stadien der Gastrulationsbewegungen beibehält. Diese späteren Stadien sollen hier nicht behandelt werden. Doch läßt sich vermuten, daß die Gastrulation bei Amphibien ebenso wie beim Seeigel ein Zweiphasenprozeß sein könnte. Die erste

Phase bestünde dann in einer Einbiegung der äußeren Oberfläche des Embryos, die durch Gestaltsänderungen der Zellen an der dorsalen Lippe des Blastopors verursacht wird.

Es ist wichtig, noch Hypothesen zu erwähnen, denen zufolge den Adhäsionseigenschaften der Zellen bei der Anordnung der Keimblätter in der Amphibiengastrula eine zentrale Funktion zukommen soll. Townes und Holtfreter (134) untersuchten das Aussonderungsverhalten (vgl. Abschnitt 4.3.4) von embryonalen Amphibienzellen. Einige interessante Vorstellungen zu ihrem Adhäsionsvermögen wurden von Steinberg (121) zur Diskussion gestellt. Steinberg nimmt an, daß Ektodermzellen das insgesamt niedrigste Cohäsionsvermögen aufweisen (sie nehmen, auf das restliche Gewebe bezogen, die äußerste Position sowohl im Embryo als auch in Aussonderungsexperimenten ein). Aber dieses Cohäsionsvermögen soll der Mittelwert aus dem sehr niederen Cohäsionsvermögen ihrer (möglicherweise von einer Hüllschicht überzogenen) äußeren Oberflächen und dem sehr hohen Cohäsionsvermögen ihrer inneren Oberfläche sein. Mesodermzellen sollen das insgesamt höchste Cohäsionsvermögen aufweisen, weil sie sich in entsprechenden Experimenten im Inneren von Ektoderm wie Entoderm aussondern und weil sie ins Entoderm einsinken, wenn man das Ektoderm entfernt (66). Die Position des Mesoderms innerhalb der Gastrula könnte durch seine hohe Adhäsion zu den inneren Oberflächen der Ektodermzellen bedingt sein. Das Entoderm, das (nach Aussonderungsexperimenten zu urteilen) eine geringere Cohäsion aufweist als das Mesoderm, könnte seine Lage im Inneren aus zwei Gründen einnehmen: a) es weist ein höheres Cohäsionsvermögen auf als das Ektoderm, aber es kann b) mit dem Mesoderm nicht hinsichtlich des Adhäsionsvermögens an die innere Oberfläche des Ektoderms konkurrieren.

Dieser kurze Überblick über die Morphogenese ließ eine Reihe von wichtigen und im Detail untersuchten Beispielen aus. Für ein eingehenderes Studium sei auf die Übersichtsartikel von Curtis (33) und Trinkaus (135) verwiesen, von denen der letztgenannte insbesondere wegen der Berücksichtigung von Trinkaus' eigenen Arbeiten zur Entwicklung von *Fundulus* empfohlen werden soll.

6. Interzelluläre Kommunikation

Es dürfte einleuchtend sein, daß die verschiedenen, in den vorhergehenden Kapiteln abgehandelten Prozesse der Musterbildung und Morphogenese eine Art Kommunikation zwischen den Zellen erfordern. Um an diesen Prozessen teilnehmen zu können, muß eine Zelle etwas über das Verhalten ihrer Nachbarzellen «wissen». Nur dann kann sie ihr eigenes Verhalten entsprechend koordinieren. Einige Mechanismen, die für eine solche interzelluläre Kommunikation in Frage kommen, wurden schon erwähnt, besonders wenn sie in ihrer Beziehung zu ganz speziellen Entwicklungprozessen dargestellt wurden. Hier sollen drei weitere Mechanismen besprochen werden, die von allgemeiner Bedeutung sein dürften.

6.1. Interzelluläre Verbindungen mit niederem elektrischen Widerstand

Zelloberflächen besitzen generell einen ziemlich hohen elektrischen Widerstand und eine niedrige Permeabilität für gelöste Moleküle. Sie bilden somit zwischen dem Inneren der Zelle und dem umgebenden Medium eine Barriere mit selektiven Eigenschaften. Seit geraumer Zeit weiß man nun, daß bestimmte Zellen im Nervensystem zu anderen Zellen Verbindungen mit relativ niederem Widerstand besitzen, die die Leitung eines elektrischen Stroms von einer Zelle zur nächsten gestatten. In jüngerer Zeit konnte gezeigt werden, daß solche Verbindungen mit niederem elektrischen Widerstand auch zwischen vielen nicht erregbaren Zellen in Embryonen und in Gewebekulturen vorhanden sind (40).

Der Nachweis von Verbindungen mit niederem Widerstand erfordert sehr empfindliche elektrophysiologische Methoden. Mit einer Glasmikroelektrode wird ein Stromimpuls in eine Zelle geleitet und der Spannungsabfall quer durch die Verbindungsmembran mit Hilfe einer in eine Nachbarzelle eingeführten zweiten Elektrode gemessen. In einer Reihe von Systemen wurden so in Verbindungszonen Widerstände gemessen, die verglichen mit den Widerständen der sonstigen Zelloberfläche niedrig sind, d. h. daß

der elektrische Widerstand zwischen den Zellen hier niederer ist als zwischen dem Inneren einer Zelle und dem umgebenden Außenmedium.

Die Konsequenz der Existenz solcher Verbindungen mit niederem Widerstand ist, daß es Bereiche hoher Permeabilität gibt, in denen Moleküle von Zelle zu Zelle passieren können. Die Weiterleitung von Molekülen von Zelle zu Zelle kann nun ein Mittel der interzellulären Kommunikation darstellen. Hinsichtlich der Größe der Moleküle, die derartige Verbindungsstellen passieren können, gibt es noch Unklarheiten. Furshpan und Potter (40) berichteten, daß Farbstoffe mit einem Molekulargewicht bis zu 1000 ziemlich rasch von Zelle zu Zelle übergehen können (das kann dadurch getestet werden, daß man Farbstoffe elektrophoretisch in Zellen einbringt und dann ihre Ausbreitung in die Nachbarzellen verfolgt). In zumindest einem Fall jedoch, beim frühen Embryo von *Xenopus*, ging der Farbstoff Fluorescein (Molekulargewicht 332) nicht von einer Zelle in die andere über, obwohl die Verbindungsmembranen niedere elektrische Widerstände aufwiesen (118).

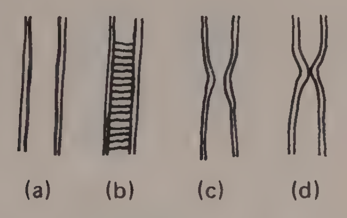


Abb. 6.1: Interzelluläre Verbindungen. a) Abstand von 20 nm zwischen den Außenflächen gegenüberliegender Elementarmembranen, wie er oft zwischen benachbarten Zellen gefunden wird. b) Septiertes Desmosom. c) «Lücken»-Verbindung. d) «Enge» Verbindung. Keine merkliche Lücke zwischen den Außenflächen.

Ein niederer elektrischer Widerstand ist offensichtlich mit speziellen Strukturen in der verbindenden Membran verknüpft. Bei z. B. Wirbellosen, besonders in der Speicheldrüse von *Drosophila* (81), weisen die interzellulären Verbindungen mit niederem Widerstand auch die charakteristische leiterähnliche Struktur auf, die als septiertes Desmosom bekannt ist (Abb. 6.1 b). Bei Wirbellosen findet sich dieser Typ Verbindung häufig. Nach einer neueren Arbeit (40) sollen bei Wirbeltieren Verbindungen mit niederem Widerstand dort vorliegen, wo sich sog. «Lücken-»

Verbindungen befinden (Abb. 6.1 c), d.h. dort, wo die Außenflächen einander gegenüberliegender plasmatischer Membranen durch eine Lücke von rund 2–3 nm voneinander getrennt sind (49). Zuvor hatte man angenommen, Verbindungen mit niederem Widerstand könnten den «engen» Verbindungen entsprechen (Abb. 6.1 d), in denen sich die äußeren Schichten berühren oder gar miteinander fusionieren. Gilula et al. stellen ebenfalls eine funktionelle Bedeutung der Verbindungen mit niederem elektrischen Widerstand heraus.

6.2. Das Oberflächenpotential als Mittler bei der Interaktion von Zellen

Auf Grund des Vorhandenseins ionogener Moleküle auf der äußeren Oberfläche ihrer Membranen verfügen Zellen über ein elektrostatisches Oberflächenpotential. In Kapitel 5 erfuhren wir, wie eine Veränderung dieses Potentials beim *Xenopus*-Ei eine Kontraktion des cortikalen Cytoplasmas verursachen und so als Mittler einer Kommunikation zwischen dem Cytoplasma des Eis und dem umgebenden Medium dienen könnte. Theoretische Überlegungen führten zu dem Schluß, das Oberflächenpotential könne auch bei der interzellulären Kommunikation eine Rolle spielen (50). Nach entsprechenden Berechnungen könnte ein dichtes Aufschließen von Zelloberflächen zu einer Erhöhung ihres Oberflächenpotentials führen. Die Veränderungen im Oberflächenpotential könnten ihrerseits Veränderungen im Ionenfluß durch die Membranen oder Veränderungen in der molekularen Konfiguration auf der cytoplasmatischen Seite der Membranen bedingen. Dadurch könnten der betreffenden Zelle Veränderungen in der Umgebung wie etwa das Näherkommen einer anderen Zelle angezeigt werden.

6.3. Chemotaxis

Die Chemotaxis – chemisch gelenkte Zellbewegung – unterscheidet sich von den eben genannten Typen interzellulärer Kommunikation dadurch, daß sie keinen Kontakt zwischen den Zellen erfordert, sondern daß Signale über Distanz weitergegeben werden können. Obwohl die Chemotaxis von allgemein-biologischer Bedeutung ist, gibt es nur sehr wenige Fälle, in denen sie bei Entwicklungsvorgängen nachweislich eine Rolle spielt. Es gibt zwei Formen der Chemotaxis, die negative und die positive Chemotaxis. Die erste findet sich bei zellulären Schleimpilzen

(vgl. Kapitel 5) (104) und Pigmentzellen der Amphibien (136), die letztgenannte bei der Befruchtung durch manche Spermatozoen (103, 86) und bei aggregierenden Zellen der Schleimpilze.

Neuen Auftrieb erhielten die Arbeiten über positive Chemotaxis bei zellulären Schleimpilzen durch die Entdeckung, daß es sich bei dem chemotaktisch wirksamen Agens, dem «Acrasin», zumindest in einigen Fällen um 3′,5′-cAMP (zyklisches AMP) handelt (76). Auch schon vor diesem Befund konnten einige wichtige Eigenschaften des chemotaktischen Mechanismus aufgedeckt oder vorhergesagt werden (17, 114). So hatte sich das Chemotaktikum als kurzlebig erwiesen, weil es enzymatisch abgebaut wird (112). Inzwischen konnte gezeigt werden, daß das betreffende Enzym, eine Phosphodiesterase – die cAMP in 5′-AMP überführt – in den Zellen gebildet wird (25). Weiterhin glaubt man annehmen zu dürfen, daß es keinen kontinuierlich vom Aggregationzentrum nach außen zu abfallenden Acrasin-Gradienten gibt, sondern vielmehr eine Sekretionswelle, die sich vom Zentrum nach außen bewegt. Man nimmt an, daß die Zellen Acrasin pulsartig sezernieren, die Zellen im Zentrum zuerst. Die Reaktion einer Zelle, die einen stimulierenden Acrasin-Impuls erhalten hat, besteht a) in gerichteter Bewegung auf das Zentrum zu und b) in der Sekretion eines Acrasin-Impulses durch die betreffende Zelle selbst. Auf die Acrasin-Sekretion folgt dann offensichtlich ein Refraktärstadium, während dessen die Zelle nicht zu einer weiteren Sekretion gebracht werden kann. Auf diese Weise könnte sich eine Welle der Acrasin-Sekretion vom Zentrum nach außen zu bewegen. In Zeitrafferfilmen kann man beobachten, wie sich die Zellen von *Dictyostelium discoideum* pulsierend auf das Zentrum zu bewegen, wobei Perioden der Bewegungsaktivität durch Intervalle von ungefähr 5 Minuten getrennt sind.

Eine detaillierte theoretische Analyse der Schleimpilz-Aggregation (28, 29) stützt im großen und ganzen ältere Hypothesen und liefert einige neue Fragestellungen für experimentelle Untersuchungen. Die biochemischen Aspekte der Aggregation werden in einer Übersichtsdarstellung Bonners (20) dargestellt. Eine eingehende Analyse der Aggregation bei Schleimpilzen könnte sehr wohl Ergebnisse liefern, die für die Chemotaxis von generellem Interesse sind.

Literaturverzeichnis

1. Abercrombie, M. (1961), Exp. Cell Res., Suppl. 8, 188.
2. Abercrombie, M. and Ambrose, E. J. (1958), Exp. Cell. Res. 15, 332.
3. Abercrombie, M. and Heaysman, J. E. M. (1953), Exp. Cell. Res., 5, 111.
4. Abercrombie, M. and Heaysman, J. E. M. (1954), Exp. Cell Res., 6, 293.
5. Abercrombie, M., Heaysman, J. E. M. and Karthauser, H. M. (1957), Exp. Cell Res., 13, 276.
6. Abercrombie, M., Heaysman, H. E. M. and Pegrum, S. M. (1970), Exp. Cell Res., 59, 393.
7. Abercrombie, M., Heaysman, J. E. M. and Pegrum, S. M. (1970), Exp. Cell Res., 60, 437.
8. Abercrombie, M., Heaysman, J. E. M. and Pegrum, S. M. (1970), Exp. Cell Res., 62, 389.
9. Amprino, R. (1965): Organogenesis, Ed. R. L. De Haan and H. Ursprung p. 255. Holt, Rinehart and Winston, New York.
10. ap Gwynn, I. and Jones, P. T. C. (1971), Z. Zellforsch., 113, 388.
11. Baker, P. C. (1965), J. Cell Biol. 24, 95.
12. Baker, P. C. and Schroeder, T. E. (1967), Dev. Biol., 15, 432.
13. Balinsky, B. I. (1960), An Introduction to Embryology, 2nd. Edition. W. B. Saunders Company, Philadelphia and London.
14. Bell, L. G. E. (1961), J. theoret. Biol., 1, 104.
15. Bluemink, J. G. (1971), Cytobiologie 3, 176.
16. Bluemink, J. G. (1971), Z. Zellforsch., 121, 102.
17. Bonner, J. T. (1947), J. exp. Zool, 106, 1.
18. Bonner, J. T. (1967), The Cellular Slime Molds, Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
19. Bonner, J. T. (1970), Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 65, 110.
20. Bonner, J. T. (1971), Ann. Rev. Microbiol., 25, 75.
21. Bonner, J. T., Sieja, T. W. and Hall, E. M. (1971), J. Embryol. exp. Morph., 25, 457.
22. Campbell, R. D. (1967), Dev. Biol., 15, 487.
23. Carter, S. B. (1967), Nature 213, 256.
24. Carter, S. B. (1967), Nature 213, 261.
25. Chang, Y. Y. (1968), Science 161, 57.
26. Child, C. M. (1941), Patterns and Problems of Development, University of Chicago Press, Chicago.
27. Clarkson, S. G. (1969), J. Embryol. exp. Morph., 21, 33.

28. Cohen, M. H. and Robertson, A. D. J. (1971), J. theoret. Biol., 31, 101.
29. Cohen, M. H. and Robertson, A. D. J. (1971), J. theoret. Biol., 31, 119
30. Cooke, J. and Goodwin, B. C. (1971), Lectures in Mathematics in the Life Sciences, Vol. 3. p. 35. Amr. Math. Soc., Providence, Rhode Island.
31. Crick, F. H. C. (1970), Nature 225, 420.
32. Crick, F. H. C. (1971), Symp. Soc. exp. Biol., 25, 429.
33. Curtis, A. S. G. (1967), The Cell Surface: its Molecular Role in Morphogenesis, London, Logos Press.
34. Curtis, A. S. G. (1969), J. Embryol. exp. Morph., 22, 35.
35. Curtis, A. S. G. (1970), J. Embryol. exp. Morph., 23, 253.
36. Czarska, L. and Grebecki, A. (1966), Acta. Protozool., 4, 201.
37. Dan, K. and Okazaki, K. (1956), Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole, 110, 29.
38. De Both, N. J. (1970), Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organ., 165, 242.
39. Faber, J. (1971), Adv. Morphogen. 9, 127.
40. Furshpan, E. J. and Potter, D. D. (1968), Current Topics in Developmental Biology, 3, 95.
41. Gallera, J. (1971), Adv. Morphogen., 9, 149.
42. Garrod, D. R. (1969), J. Cell Sci., 41, 781.
43. Garrod, D. R. (1972), Exp. Cell Res., 72, 588.
44. Garrod, D. R., Palmer, J. F. and Wolpert, L. (1970), J. Embryol. exp. Morph., 23, 311.
45. Garrod, D. R. and Wolpert, L. (1968), J. Cell Sci., 3, 365.
46. Gaze, R. M. (1970), The Formation of Nerve Connections, Academic Press, London, New York.
47. Gerisch, G. (1960), Roux, Arch. Entwicklungsmech. Organ., 156, 127.
48. Gerisch, G. (1968), Current Topics in Developmental Biology, 3, 159.
49. Gilula, N. B., Reeves, O. R. and Steinbach, A. (1972), Nature, 235, 262.
50. Gingell, D. (1967), J. theoret. Biol., 17, 451.
51. Gingell, D. (1970), J. Embryol. exp. Morph., 23, 583.
52. Goldacre, R. J. (1961), Exp. Cell Res., Suppl. 8, 1.
53. Goldman, R. D. (1971), J. Cell Biol., 51, 752.
54. Goodwin, B. C. and Cohen, M. H. (1969), J. theoret. Biol., 25, 49.
55. Goss, R. J. (1961), Adv. Morphogen., 1, 103.
56. Gustafson, T. (1963), Exp. Cell Res., 32, 570.
57. Gustafson, T. (1964), Primitive Motile Systems, Ed. R. D. Allen and N. Kamiya p. 333. Academic Press, New York and London.
58. Gustafson, T. and Kinnander, H. (1956), Exp. Cell. Res. 11, 36.

59. Gustafon, T. and Wolpert, L. (1961), Exp. Cell Res., 22, 437.
60. Gustafson, T. and Wolpert, L. (1963), Int. Rev. Cytol., 15, 139.
61. Gustafson, T. and Wolpert, L. (1967), Biol. Rev., 42, 442.
62. Hampé, A. (1958), J. Embryol. exp. Morph., 6, 215.
63. Hay, E. D. (1965), Organogenesis, Ed. R. L. De Haan and H. Ursprung p. 315. Holt, Rinehart und Winston, New York.
64. Holtfreter, J. (1943), J. exp. Zool., 93, 251.
65. Holtfreter, J. (1943), J. exp. Zool., 94, 261.
66. Holtfreter, J. (1944), J. exp. Zool., 95, 171.
67. Holtfreter, J. (1948), Ann. N. Y. Acad. Sci., 49, 709.
68. Hörstadius, S. (1952), J. exp. Zool., 120, 421.
69. Huxley, J. S. and De Beer, G. R. (1934), The Elements of Experimental Embryology, Cambridge University Press, London.
70. Ingram, V. T. (1969), Nature, 222, 641.
71. Ishikawa, H., Bischoff, R. and Holtzer, H. (1969), J. Cell Biol., 43, 312.
72. Jones, B. M. (1966), Nature, 212, 362.
73. Jones, B. M. and Morrison, G. A. (1969), J. Cell Sci., 4, 799.
74. Karfunkel, P. (1971), Dev. Biol., 25, 30.
75. Kemp, R. B., Jones, B. M. and Groschell-Stewart, U. (1971), J. Cell Sci., 9, 103.
76. Konijn, T. H., van der Meene, J. G. C., Bonner, J. T. and Barkley, D. S. (1967), Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 58, 1152.
77. Lawrence, P. A. (1970), Adv. Insect. Physiol., 7, 197.
78. Lawrence, P. A. (1971), Symp. Soc. exp. Biol., 25, 379.
79. Locke, M. (1959), J. exp. Biol., 36, 459.
80. Locke, M. (1966), Adv. Morphogen., 6, 33.
81. Loewenstein, W. R. (1966), Ann. N. Y. Acad. Sci., 137, 441.
82. Mangold, O. (1931), Naturwissenschaften, 19, 905.
83. Marcus, W. (1962), Arch. Entw.Mech. Org., 154, 56.
84. Martz, E. and Steinberg, M. S. (1972), J. Cell Physiol., 79, 189.
85. Mettetal, C. (1939), Arch. Anat. Hist. Embryol., 28, 1.
86. Miller, R. L. (1963), J. exp. Zool., 162, 23.
87. Moore, A. R. and Burt, A. S. (1939), J. exp. Zool., 82, 159.
88. Morgan, J., Fyfe, D. and Wolpert, L. (1967), Exp. Cell Res., 48, 194.
89. Moscona, A. A. (1968), Dev. Biol., 18, 250.
90. Perry, M. M., John, H. A. and Thomas, N. S. T. (1971), Exp. Cell Res., 65, 249.
91. Perry, M. M. and Waddington, C. H. (1966), J. Embryol. exp. Morph., 15, 317.
92. Piatt, J. (1942), J. exp. Zool., 91, 79.
93. Piatt, J. (1952), J. exp. Zol., 120, 247.
94. Piatt, J. (1956), J. exp. Zool., 131, 173.
95. Piepho, H. (1955), Biol. Zbl., 74, 467.

96. Phillips, H. M. and Steinberg, M. S. (1969), Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 64, 121.
97. Raper, K. B. (1940), J. Elisha Mitchell Sci. Soc., 56, 241.
98. Rose, S. M. (1952), Am. Nat., 86, 337.
99. Rose, S. M. (1967), Growth, 31, 149.
100. Rosenberg, M. D. (1963), Science, 139, 411.
101. Roth, S. A. (1968), Dev. Biol., 18, 602.
102. Roth, S. A. and Weston, J. A. (1967), Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 58, 974.
103. Rothschild, Lord (1956), Fertilization, Methuen, London.
104. Samuel, E. W. (1961), Dev. Biol., 3, 317.
105. Saunders, J. W. (1948), J. exp. Zool., 108, 363.
106. Saunders, J. W. and Gasseling, M. T. (1968), Epithelial-mesenchymal Interactions, Ed. R. Fleischmajer and R. E. Billingham p. 78. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, Maryland.
107. Saxen, L. and Toivonen, S. (1962), Primary Embryonic Induction, Logos Press, London.
108. Schroeder, T. E. (1969), Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole, 137, 413.
109. Schroeder, T. E. (1970), J. Embryol. exp. Morph., 23, 427.
110. Selman, G. G. and Perry, M. M. (1970), J. Cell. Sci., 6, 207.
111. Sengel, P. (1971), Adv. Morphogen., 9, 181.
112. Shaffer, B. M. (1956), Science, 123, 1172.
113. Shaffer, B. M. (1957), Quart. J. micr. Sci., 98, 377.
114. Shaffer, B. M. (1962), Adv. Morphogen., 2, 109.
115. Shaffer, B. M. (1963), Exp. Cell Res., 32, 603.
116. Shaffer, B. M. (1964), Primitive Motile Systems, Ed. R. D. Allen and N. Kamiya p. 387. Academic Press, New York.
117. Shaffer, B. M. (1965), J. theoret. Biol., 8, 27.
118. Slack, C. and Palmer, J. F. (1969), Exp. Cell Res., 55, 416.
119. Sperry, R. W. and Arora, H. L. (1965), J. Embryol. exp. Morph., 14, 307.
120. Spooner, B. M. and Wessels, N. K. (1970), Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 66, 360.
121. Steinberg, M. S. (1964), Cellular Membranes in Development, Ed. M. Locke p. 321. Academic Press, New York and London.
122. Steinberg, M. S. (1970), J. exp. Zool., 173, 395.
123. Stocum, D. L. (1968), Dev. Biol. 18, 441.
124. Stocum, D. L. (1968), Dev. Biol., 18, 457.
125. Stoker, M. and Rubin, H. (1967), Nature, 215, 171.
126. Stumpf, H. (1967), Arch. EntwMech. Org., 158, 315.
127. Szekely, G. (1963), J. Embryol. exp. Morph., 11, 431.
128. Szolli, D. (1970), J. Cell Biol., 44, 192.
129. Takeuchi, I. (1969), Nucleic Acid Metabolism, Cell Differentiation and Cancer Growth, Ed. E. V. Cowdry and S. Seno p. 297. Pergamon Press, New York.

130. Taylor, A. C. (1943), Anat. Rec., 87, 379.
131. Thornton, C. S. and Thornton, M. T. (1965), Experentia, 21, 146.
132. Tiedemann, H. (1966), Current Topics in Developmental Biology, 1, 85.
133. Tilney, L. G. and Gibbons, J. R. (1969), J. Cell Sci., 5, 195.
134. Townes, P. L. and Holtfreter, J. (1955), J. exp. Zool., 128, 53.
135. Trinkaus, J. P. (1969), Cells into Organs: The Forces that Shape the Embryo, Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
136. Twitty, V. C. and Niu, M. C. (1954), J. exp. Zool., 125, 541.
137. Vaughan, R. B. and Trinkaus, J. P. (1966), J. Cell Sci., 1, 407.
138. Waddington, C. H. (1966), Major Problems in Developmental Biology, Ed. M. Locke p. 105. Academic Press, New York.
139. Waddington, C. H. and Perry, M. M. (1966), Exp. Cell Res., 41, 691.
140. Webster, G. (1966), J. Embryol. exp. Morph., 16, 105.
141. Webster, G. (1966), J. Embryol. exp. Morph., 16, 123.
142. Webster, G. and Wolpert, L. (1966), J. Embryol. exp. Morph., 16, 91.
143. Weiss, P. (1958), Int. Rev. Cytol., 7, 1.
144. Weston, J. A. and Abercrombie, M. (1967), J. exp. Zool., 164, 317.
145. Wilby, O. K. and Webster, G. (1970), J. Embryol. exp. Morph., 24, 595.
146. Wohlman, A. and Allen, R. D. (1968), J. Cell Sci., 3, 103.
147. Wolpert, L. (1969), J. theoret. Biol., 25, 1.
148. Wolpert, L. (1970), The New Scientist, 46, 322.
149. Wolpert, L. (1971), The Scientific Basis of Medicine Annual Reviews, p. 81.
150. Wolpert, L., Hicklin, J. and Hornbruch, H. (1971), Symp. Soc. exp. Biol., 25, 391.
151. Wolpert, L. and Mercer, E. H. (1961), Exp. Cell Res., 22, 45.
152. Wolpert, L. and O'Neill, C. H. (1962), Nature 196, 1261.
153. Wolpert, L., Thompson, C. H. and O'Neill, C. H. (1964), Primitive Motile Systems, Ed. R. D. Allen and N. Kamiya p. 143. Academic Press, New York.
154. Zotin, A. I. (1964), J. Embryol. exp. Morph., 12, 247.
155. Zwilling, E. (1961), Adv. Morphogen., 1, 301.

Hinweise auf deutschsprachige Literatur

Der vorliegende Band setzt, wie eingangs erwähnt, Grundkenntnisse in der Allgemeinen Biologie, insbesondere in der Entwicklungsgeschichte der Tiere voraus. Eine umfassende Darstellung der Allgemeinen Biologie findet sich in

Czihak, G., H. Langer und H. Ziegler (Herausgeber): Grundriß der Biologie. Berlin–Heidelberg–New York: Springer 1974.

Niemand sollte eigentlich dieses Buch lesen, ohne zuvor die immer noch unübertroffene Darstellung

Kühn, A.: Vorlesungen über Entwicklungsphysiologie. Berlin–Heidelberg–New York: Springer 2. Aufl. 1965

studiert zu haben. Eine detaillierte Darstellung vor allem der Entwicklungsgeschichte in den einzelnen systematischen Kategorien bietet

Pflugfelder, O.: Entwicklungsgeschichte und Entwicklungsphysiologie der Tiere. Stuttgart: Gustav Fischer 2. Aufl. 1970.

Eine kürzer gehaltene, vor allem durch ihr Bildmaterial erwähnenswerte Darstellung ist

Emschermann, H.: Entwicklung. Freiburg–Basel–Wien: Herder 1973.

Nicht erwähnt wird in vorliegendem Buch, daß es auch im Pflanzenreich vergleichbare Phänomene, so Musterbildungen, gibt. Kühns Entwicklungsphysiologie gibt dafür Belege, vor allem aber

Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Berlin–Heidelberg–New York: Springer 3. Aufl. 1953,

ein Buch, das jeder Botaniker trotz seines relativ hohen «Alters» immer wieder gerne zur Hand nimmt.

Weitere empfehlenswerte Literatur:

Butterfaß, Th.: Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Pflanze. Heidelberg: Quelle und Meyer 1970.

Danzer, A.: Fortpflanzung, Entwicklung, Entwicklungsphysiologie. Heidelberg: Quelle und Meyer 1966.

Ebert, J. D.: Entwicklungsphysiologie. München–Bern–Wien: Bayerischer Landwirtschaftsverlag 1967 (in diesem Fall ist die erweitere zweite Aufl. des englischen Originals vorzuziehen: Ebert, J. D., and I. M. Sussex: Interacting Systems in Development. New York: Holt, Rinehart and Winston 2. ed. 1970).

Fiorini, P.: Einführung in die Embryologie. München–Bern–Wien: BLV 1973.

Hadorn, E.: Experimentelle Entwicklungsforschung, im besonderen an

Amphibien. Berlin–Heidelberg–New York: Springer 2. Aufl. 1970.
Houillon, Ch: Embryologie. Braunschweig: Vieweg 1972.
Markert, C. L., und H. Ursprung: Entwicklungsbiologische Genetik. Stuttgart: Gustav Fischer 1974.
Mohr, H., und P. Sitte: Molekulare Grundlagen der Entwicklung. München–Bern–Wien: BLV 1971.
Seidel, F.: Entwicklungsphysiologie der Tiere. I: Ei und Furchung. Berlin: Walter de Gruyter 2. Aufl. 1972.
Schwartz, V.: Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Tiere. Stuttgart: Thieme 1973.
Siewing, R.: Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Tiere. Hamburg: Parey 1969.
Wolff, E.: Experimentelle Embryologie (Allgemeine Biologie Band 3). Stuttgart: Gustav Fischer 1971.

Unter diese Hinweise konnten nur Bücher, keine Zeitschriftenartikel aufgenommen werden. Eine Ausnahme sei gemacht:

Gerisch, H.: Periodische Signale steuern die Musterbildung in Zellverbänden. Naturwissenschaften 58, 430–438 (1971),

eine Arbeit, die eine ausgezeichnete Übersicht über neuere Ergebnisse von Untersuchungen zur Aggregation von *Dictyostelium* gibt.

Sachregister

Führer zur modernen Biologie



Ziel der Reihe ist es, vor allem den Biologiestudenten der höheren Semester mit den derzeitigen Forschungsergebnissen besonders wichtiger Bereiche seines Faches vertraut zu machen.

Die einzelnen Autoren geben einen kurzen Überblick des betreffenden Gebietes und liefern damit den theoretischen Rahmen, innerhalb dessen die moderne Forschung theoretische und praktische Probleme angeht.

Die vorliegenden Bände stellen keine ausführlichen Lehrbücher, sondern „Führer" dar, die jene Wissensbereiche erfassen, die zwischen mehreren akademischen Disziplinen liegen oder in rascher Entwicklung sind. Gerade auf diesen Gebieten ist die Kluft zwischen Lehrbüchern und anderweitigen Veröffentlichungen sehr deutlich, so daß mit dieser Reihe grundlegende Lehrbücher ergänzt, keineswegs jedoch überflüssig werden. Jeder Student wird diese kurzen Bände, die ihn an den aktuellsten Stand des Faches heranführen, mit Gewinn lesen und auch zur Examensvorbereitung nutzen können.

Weitere Taschenbücher der Reihe:

Zelldifferenzierung

Von J. M. Ashworth, University of Leicester

1974. VIII, 96 Seiten, 35 Abbildungen, 4 Tabellen, Taschenbuch DM 8,80

Funktionen biologischer Membranen

Einführung in den zellulären Stofftransport

Von M. Davies, University of York

1974. VIII, 94 Seiten, 27 Abbildungen, 10 Tabellen, Taschenbuch DM 8,80

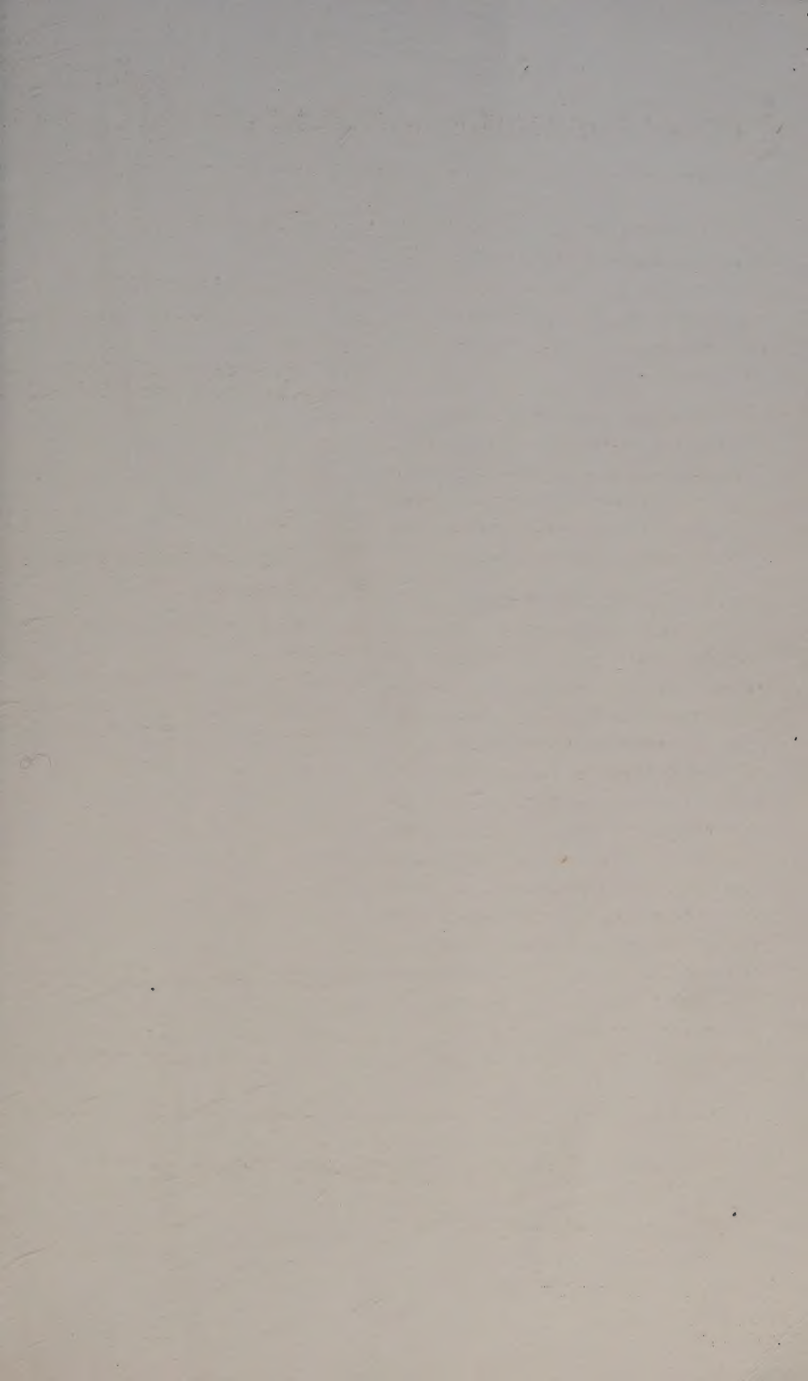
Biochemische Genetik

Von R. A. Woods, Sheffield

1974. VIII, 94 Seiten, 35 Abbildungen, 7 Tabellen, Taschenbuch DM 8,80



Gustav Fischer Verlag
Stuttgart



Naturwissenschaften

DM 8,80

ISBN 3-437-20125-5